


Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
Институт фундаментальной медицины и биологии
Кафедра микробиологии

Направление подготовки (специальность): 06.04.01 – Биология

Профиль (специализация, магистерская программа): Микробиология и вирусология

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ
**ПОИСК И ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ
ШТАММОВ, ОБЛАДАЮЩИХ АНТАГОНИСТИЧЕСКИМ
ПОТЕНЦИАЛОМ**

Обучающийся 2 курса
группы 01-040-2



М.П. Рудич

Научный руководитель
канд. биол. наук, доцент



В.В. Ульянова

Заведующий кафедрой микробиологии
д-р биол. наук, профессор



О.Н. Ильинская

Казань – 2022

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Культивирование микроорганизмов	7
1.1.1 Культивирование бактерий	8
1.1.2 Культивирование грибов	10
1.1.3 Морфологическая биоинженерия.....	11
1.2 Антагонизм почвенных бактерий с фитопатогенными грибами	13
1.2.1 Характеристика гриба <i>Fusarium oxysporum</i>	13
1.2.2 Бактерии как агенты контроля фитопатогенов	14
1.2.3 Влияние грибных метаболитов и бактерий на живые организмы	17
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	19
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	19
2.1 Штаммы бактерий и грибов	19
2.2 Питательные среды	19
2.3 Условия культивирования.....	19
2.4 Приготовление музея бактериальных культур	20
2.5 Технология iChip	20
2.6 Идентификация бактерий.....	21
2.7 Определение антагонистической активности в отношении бактерий	22
2.7.1 Метод штрихов.....	22
2.7.2 Метод лунок.....	22
2.8 Определение антагонистической активности в отношении грибов	22
2.8.1 Модифицированный метод штрихов.....	22
2.8.2 Метод лунок.....	23
2.9 Количественная и качественная оценка морфологических и физиологических изменений грибов.....	24

2.10 Биоинформатический анализ данных.....	24
2.11 Статистическая обработка результатов.....	24
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	26
3.1 Выделение бактерий из почвы по технологии iChip и их характеристика	26
3.2 Определение спектра антагонистической активности выделенных из почвы бактерий.....	28
3.3 Оценка влияния метаболитов выделенной из почвы бактерии на морфологию и физиологию фитопатогенных грибов.....	34
ВЫВОДЫ.....	44
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	45

ВВЕДЕНИЕ

Изучение и культивирование новых форм микроорганизмов имеет решающее значение для совершенствования мировоззренческой картины реальности и прогресса всех смежных отраслей науки. Эффективность и эргономичность производственных процессов при сохранении высокой рентабельности достигается не только автоматизацией систем производства, но и изменением основных объектов, контролирующих биохимический процесс. Такими объектами в значительном спектре микробиологических отраслей промышленности являются штаммы микроорганизмов. Штаммы микроорганизмов нашли основное применение, как источники ферментов для различных стадий реакции брожения в пищевой, винодельческой, хлебопекарной и других отраслях промышленности [Viswanath Vittaladevaram, 2017]. Стоит упомянуть роль микроорганизмов в текстильной промышленности, как агентов, обесцвечивающих текстильные красители [Han *et al.*, 2012] и нельзя исключить возрастающую роль микроорганизмов в медицине, особенно в получении антибиотиков, нацеленных на новые мишени [Khardori *et al.*, 2020].

Коснемся в качестве примера лишь одного момента, а именно, обнаружения производного β -карболина из штамма Y5 *Pseudomonas koreensis*, проявившего антимикробные свойства и цитотоксичность при низких концентрациях [Kaur *et al.*, 2019]. Открытие данного вещества в бактерии, обитающей в молоке яков, освещает важность и необходимость изучения микробиома необычных мест обитания. В данном примере вещество β -карболин нашло применение в разработке потенциальных терапевтических средств против антибиотикорезистентных штаммов.

Особенности биотопов естественной среды обитания, а именно: уникальный ферментный состав, наличие питательных веществ, свободного кислорода и постепенное урегулирование метаболических процессов до

состояния некоторого временного равновесия, оказывают влияние на популяцию каждого входящего в биотоп вида. Суммарно такое влияние обуславливает давление емкости среды, возникающее в первую очередь из-за антагонистических и симбиотических отношений между разными организмами. Существенное воздействие межвидовых и внутривидовых факторов на рост и развитие определенной популяции микроорганизмов часто приводит к невозможности культивировать микроорганизмы в лабораторных условиях, что является отличным предлогом для поиска и внедрения новых методов.

В связи с вышесказанным, целью нашего исследования стал поиск и характеристика новых бактериальных штаммов, обладающих антагонистическим потенциалом.

Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

1. Выделить из почвы бактерии по технологии iChip и охарактеризовать их.
2. Определить спектр антагонистической активности выделенных бактерий.
3. Оценить влияние метаболитов выделенных бактерий на морфологию и физиологию фитопатогенных грибов.

ВЫВОДЫ

1. С помощью технологии iChip из ризосферы вяза мелколистного *Ulmus pumila* были выделены бактерии, идентифицированные как *Pseudomonas koreensis*. Биоинформатический анализ корового генома известных штаммов *P. koreensis* позволил обнаружить у них 6 генов рецепторов к сидерофорам, 3 гена взаимодействующих с сидерофорами белков, 64 гена биосинтеза хиноновых соединений, 34 гена биосинтеза соединений группы гидрохинонов, а также Fe^{2+} -зависимые гидролазы и другие белки, характеризующие антагонистический потенциал выделенных бактерий.

2. Было установлено, что выделенная из почвы бактерия *P. koreensis* проявляет антагонистическую активность в отношении ряда микромицетов: *P. chrisogenum*, *A. puulaauensis*, *A. alternaria*, *A. fumigatum*, *F. solani*, *F. oxysporum* DR-40, при этом эффект наиболее выражен на 2-4 сутки совместного культивирования и лучше проявляется на среде LA, чем на среде Чапека-Докса.

3. Было показано, что под действием *P. koreensis* изменяется пигментация мицелия *F. oxysporum* DR-40 с розового на оранжевый, происходит удлинение гифов и нарушение симметричной структуры мицелия.