

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: 06.03.01 – Биология

Профиль подготовки: Микробиология и вирусология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ МИКРОМИЦЕТОВ НА УРОВЕНЬ  
ПРОДУКЦИИ БАКТЕРИЯМИ *BACILLUS SUBTILIS* СИДЕРОФОРОВ И  
ИНДОЛИЛ-3-УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

Обучающийся 4 курса  
группы 01-905

"13" июня 2023 г.



Андреева Т.Е.

Научный руководитель

д-р биол. наук, профессор

"13" июня 2023 г.



Марданова А.М.

Заведующий кафедрой  
микробиологии

д-р биол. наук, профессор

"13" июня 2023 г.



Ильинская О.Н.

Казань – 2023

# СОДЕРЖАНИЕ

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	4
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	7
1.1 Общая характеристика микромицетов рода <i>Fusarium</i> .....	7
1.2 <i>Fusarium spp.</i> как возбудители заболеваний различных растений .....	9
1.3 Фузариоз картофеля.....	10
1.4 Молекулярные механизмы патогенности <i>Fusarium</i> .....	14
1.5 Биоконтроль фитопатогенов с помощью ризосферных бактерий.....	17
1.5.1 Характеристика бактерий рода <i>Bacillus</i> как агентов биоконтроля.....	17
1.5.2 Антимикробный потенциал <i>Fusarium</i> .....	19
1.5.3 Синтез метаболитов биоконтрольными штаммами .....	20
1.5.3.1 Сидерофоры.....	20
1.5.3.2 Ауксины .....	23
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b> .....	25
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b> .....	25
2. 1 Объекты исследования .....	25
2. 2 Питательные среды .....	25
2. 3 Условия культивирования.....	25
2.4 Исследование морфологии.....	26
2.5 Исследование вирулентности штаммов фузарий .....	26
2.6 Получение экзометаболитов <i>F. oxysporum</i> .....	26
2.7 Определение продукции ИУК .....	26
2.8 Исследование способности <i>B. subtilis</i> GM5 к продукции сидерофоров катехолового и гидроксаматового типов.....	27
2.9 Исследование относительной экспрессии бацилярных генов <i>dhbF</i> , <i>btr</i> , <i>fhuB</i> , <i>feuA</i> .....	29
2.10 Статистическая обработка результатов .....	30
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ</b> .....	31
3.1 Характеристика штаммов <i>Fusarium oxysporum</i> .....	31
3.2 Исследование вирулентности штаммов <i>F. oxysporum</i> .....	33

3.3 Получение грибных экзометаболитов.....	34
3.4 Исследование влияния экзометаболитов на продукцию ИУК <i>B. subtilis</i> GM5.....	35
3.5 Исследование влияния грибных экзометаболитов на продукцию сидерофоров <i>B. subtilis</i> .....	37
3.6 Оценка экспрессии генов <i>B. subtilis</i> GM5, отвечающих за синтез сидерофоров.....	39
<b>ВЫВОДЫ</b> .....	41
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b> .....	42

## ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день картофель (*Solanum tuberosum* L.) считается самой важной незерновой культурой в мире [Altaf *et al.*, 2022]. Организация объединенных наций определила картофель как продукт питания, который потенциально может обеспечить мировую продовольственную безопасность, так как эта растительная культура очень питательна и может расти практически в любой среде [Kumar *et al.*, 2022; Lal *et al.*, 2022]. Картофель выращивают из-за клубней, которые употребляются в различном виде. Снижение производства клубней может быть связано с различными абиотическими и биотическими факторами [Shoala *et al.*, 2021]. Одним из важных фитопатогенов картофеля на сегодняшний день является *Fusarium*, который вызывает фузариозное увядание растений. Фузариоз на сегодняшний день является экономически важным и разрушительным заболеванием клубней картофеля, которое возникает как в полевых условиях, так и при хранении, вызывая потери урожая в диапазоне от 6% до 25% во всем мире, в то время как ещё бóльшие потери могут произойти при длительном хранении клубней [Rampersad *et al.*, 2020; Tiwari *et al.*, 2020].

Существуют различные методы борьбы с заболеваниями растений, такие как пестициды, севооборот, использование менее восприимчивых культур. Однако, такие методы, как правило, малоэффективны [Ab Rahman *et al.*, 2018]. Экологически чистые варианты борьбы с заболеваниями растений и повышения урожайности сельскохозяйственных культур на настоящий момент активно исследуются и пропагандируются [Souza *et al.*, 2015]. Одним из таких подходов является внедрение полезных микроорганизмов для уменьшения вредного воздействия фитопатогенов и стимулирования благоприятных реакций растений [Lazarovits *et al.*, 2014]. Одним из наиболее изученных средств биоконтроля, таких как биопестициды, являются препараты на основе бактерий рода *Bacillus*, которые подавляют фитопатогены с помощью механизмов конкуренции и антагонизма [Mnif *et*

*al.*, 2015]. Данный род бактерий поддерживает рост растений за счет фиксации азота, солубилизации P и K, синтеза фитогормонов. Также бациллы выделяют многочисленные внеклеточные метаболиты, включая антибиотики, литические ферменты, сидерофоры [Khan *et al.*, 2022].

Между растениями, ризосферными бактериями и фитопатогенами возникают различные сложные взаимодействия, которые в итоге влияют на здоровье и продуктивность растений. В литературе много данных о влиянии ризосферных бактерий на различные фитопатогены, или влиянии патогенов на растения, но малочисленны данные о влиянии патогенных грибов на метаболизм полезных бактерий. Поэтому актуальным является исследование влияния метаболитов фитопатогенов на бактерии с биоконтрольными функциями.

Целью настоящей работы является исследование влияния экзометаболитов фитопатогенного штамма *Fusarium oxysporum* на *Bacillus subtilis* GM5.

В работе решались следующие задачи:

- 1) Сравнительная характеристика морфологии и вирулентности штаммов *F. oxysporum* DR40, DR44 и DR57.
- 2) Получение экзометаболитов *F. oxysporum* и оценка их влияния на рост штамма *B. subtilis* GM5.
- 3) Исследование влияния экзометаболитов *F. oxysporum* на продукцию индолил-уксусной кислоты штаммом *B. subtilis* GM5.
- 4) Исследование влияния экзометаболитов *F. oxysporum* на продукцию сидерофоров *B. subtilis* GM5.
- 5) Характеристика влияния экзометаболитов *F. oxysporum* на экспрессию генов *B. subtilis* GM5, отвечающих за синтез сидерофоров.

## ВЫВОДЫ

1) Штаммы *Fusarium oxysporum* DR40, DR44 и DR57 различаются по пигментообразованию и морфологии спор, а также способностью вызывать сухую гниль в клубнях разных сортов картофеля. Высокую вирулентность проявил штамм DR57. Наиболее устойчивы к фузариозу оказались клубни сорта Регги.

2) Экзометаболиты штамма *F. oxysporum* DR57 снижают рост штамма *B. subtilis* GM5 на 18.9 % в первые сутки. В течение последующих 4 суток культивирования влияние экзометаболитов снижается и на 96 час ингибирующий эффект не превышает 10%.

3) Триптофан повышает выработку ИУК штаммом GM5. Добавление экзометаболитов фузарий вместе с триптофаном в среду культивирования бацилл еще больше стимулирует бактерии к синтезу ИУК. Так экзометаболиты фузарий, полученные на среде M9, повышали продуктивность бактерий в 2.1 раза, а экзометаболиты, полученные на среде КГА, – в 2.7 раза.

4) При добавлении экзометаболитов *Fusarium* продукция сидерофоров штаммом *B. subtilis* GM5 снижается в 1.2-1.5 раза относительно контроля.

5) В присутствии экзометаболитов *Fusarium* у штамма *B. subtilis* GM5 относительная экспрессия генов *dhbF* увеличивается в 3.5, гена *btr* – в 2 раза. В то время как экспрессия гена *fhuB* остается почти неизменной, а гена *feuA* снижается в 1.7 раза.