

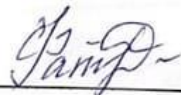
Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«Казанский (Приволжский) Федеральный Университет»
Институт фундаментальной медицины и биологии
Кафедра микробиологии

Направление подготовки: 06.03.01 – Биология

Профиль подготовки: Микробиология и вирусология


ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНДОФИТНЫХ
АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КОРНЕЙ
ACHILLEA MILLEFOLIUM L. И *HYPERICUM PERFORATUM*
L., В ОТНОШЕНИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ
МИКРООРГАНИЗМОВ

Студент 4 курса
группы 01-804
" 1 " июня 2022 г.



(Фаттахова А.Р.)

Научный руководитель
к.б.н., доцент
" 1 " июня 2022 г.



(Карамова Н.С.)

Заведующий кафедрой
микробиологии
д.б.н., профессор
" 1 " июня 2022 г.



(Ильинская О.Н.)

Казань – 2022

СОДЕРЖАНИЕ

| | стр. |
|--|------|
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ | 4 |
| ВВЕДЕНИЕ | 5 |
| 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ | 7 |
| 1.1 Эндوفитные микроорганизмы | 7 |
| 1.2 Фитопатогенные микроорганизмы | 11 |
| 1.3 Эндوفитные актинобактерии как агенты биоконтроля фитопатогенных микроорганизмов | 16 |
| 1.3.1 Синтез антимикробных метаболитов | 18 |
| 1.3.2 Роль эндوفитных актинобактерий в индукции устойчивости растений к фитопатогенам | 21 |
| ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ | 23 |
| 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ | 23 |
| 2.1 Исследуемые микроорганизмы | 23 |
| 2.2 Питательные среды и растворы | 23 |
| 2.3 Условия культивирования | 25 |
| 2.4 Методы оценки антимикробной активности | 26 |
| 2.4.1 Оценка антимикробной активности методом агаровых блоков | 26 |
| 2.4.2 Диско-диффузионный тест | 26 |
| 2.5 Экстракция экзометаболитов изолятов актинобактерий из культуральной жидкости | 27 |
| 2.6 Количественное определение индолилуксусной кислоты | 28 |
| 2.7 Оценка способности изолятов актинобактерий фиксировать атмосферный азот | 28 |
| 2.8 Определение фосфатмобилизующей и фитатгидрализующей активностей изолятов | 29 |
| 2.9 Определение чувствительности к антибиотикам | 29 |
| 2.10 Оценка аммонийной активности изолятов | 29 |
| 2.11 Определение способности изолятов актинобактерий | |

| | |
|---|-----------|
| продуцировать цианиды | 30 |
| 2.12 Способность изолятов эндофитных актинобактерий продуцировать сидерофоры катехолового типа | 30 |
| 2.13 Количественное определение фенольных соединений | 30 |
| 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ | 32 |
| 3.1 Оценка антимикробной активности изолятов эндофитных актинобактерий | 32 |
| 3.2 Антимикробный эффект этилацетатных экстрактов культуральной жидкости изолятов актинобактерий | 33 |
| 3.3 Определение способности изолятов эндофитных актинобактерий продуцировать аммиак и цианиды | 34 |
| 3.4 Определение чувствительности изолятов эндофитных актинобактерий к антибиотикам | 35 |
| 3.5 Количественное определение фенольных соединений | 36 |
| 3.6 Оценка способности бактерий продуцировать сидерофоры | 37 |
| 3.7 Количественное определение индолилуксусной кислоты продуцируемой изолятами эндофитных актинобактерий | 38 |
| 3.8 Оценка способности изолятов эндофитных актинобактерий к фиксации азота | 40 |
| 3.9 Фосфатмобилизующая и фитатгидролизующая активность изолятов эндофитных актинобактерий | 42 |
| ВЫВОДЫ | 45 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ | 46 |

ВВЕДЕНИЕ

Эндوفитные микроорганизмы встречаются практически во всех растениях на Земле. Эти организмы обитают во внутренних тканях растений, не вызывая заметных симптомов заболевания у своих хозяев. Поэтому их считают комменсалистическими симбионтами, поскольку они получают питание и стабильную среду обитания и, в свою очередь, производят большое разнообразие биоактивных метаболитов [Tanvir *et al.*, 2019]. Они вездесущи по своей природе и демонстрируют сложные взаимодействия со своими хозяевами, которые включают мутуализм, антагонизм и редко паразитизм. Известно, что эндифиты способствуют росту хозяина и увеличению количества питательных веществ. Они могут улучшить способность растений переносить различные типы абиотических и биотических стрессов и повысить устойчивость растений к фитопатогенам и вредителям [Joseph, Priya, 2011].

С тех пор, как была установлена связь между актинобактериями и растениями, исследователи использовали несколько методов для их выделения, при этом разнообразие изолированных эндифитов зависело от используемого метода выделения [Dinesh *et al.*, 2017]. Сообщалось о выделении актинобактерий почти из всех частей растения (корни, стебли и листья, а в некоторых случаях семена, плоды и цветы). Есть и другие сообщения, в которых упоминается об их изоляции из семязачатков, клубней, стержней, почек и даже коры. Зачастую корни являются частью, наиболее колонизированной эндифитами [Heijden *et al.*, 2016].

Биохимическая гетерогенность, экологическое разнообразие и исключительная способность эндифитных микроорганизмов производить вторичные метаболиты делают их идеальным источником для производства ферментов. Например, актинобактерии синтезируют внеклеточные ферменты, которые гидролизуют сложные макромолекулы, такие как: белки, крахмал, гумус, целлюлоза и лигноцеллюлоза [Minotto *et al.*, 2014].

Эндوفиты могут способствовать росту растений с помощью прямых и косвенных механизмов, включая солюбилизацию фосфора, фиксацию атмосферного азота, продукцию сидерофоров, индукцию устойчивости к патогенам у своих хозяев и содействие устойчивости к абиотическим стрессам, таким как высокая соленость и засуха [Chen *et al.*, 2019].

Целью настоящей работы явилась оценка антимикробной активности эндофитных актинобактерий, выделенных из корней *Achillea millefolium L.* и *Hypericum perforatum L.*, в отношении фитопатогенных микроорганизмов.

В соответствии с поставленной целью решались следующие задачи:

1) Охарактеризовать антимикробный эффект изолятов эндофитных актинобактерий и этилацетатных экстрактов их культуральной жидкости в отношении фитопатогенных бактерий и микромицетов.

2) Оценить способность изолятов эндофитных актинобактерий синтезировать антимикробные метаболиты (аммиак, цианиды, фенольные соединения, сидерофоры).

3) Охарактеризовать фитатгидролизующий, фосфатмобилизующий, азотфиксирующий потенциалы исследуемых изолятов.

4) Определить способность изолятов эндофитных бактерий продуцировать индолил-3-уксусную кислоту.

5) Оценить чувствительность исследуемых изолятов к антибиотикам разных классов.

ВЫВОДЫ

- 1) Изоляты эндофитных актинобактерий демонстрируют антимикробный эффект в отношении пяти видов фитопатогенных бактерий и одного микромицета.
- 2) Исследуемые изоляты синтезируют метаболиты, обладающие антимикробным потенциалом: сидерофоры, аммиак, фенольные соединения.
- 3) Изоляты эндофитных актинобактерий проявляют фосфатмобилизующее и фитатгидролизующее действие. Изолят 8t демонстрирует азотфиксирующий потенциал.
- 4) Изоляты 8t и 6z продуцируют максимальное количество индолил-3-уксусной кислоты на пятый день культивирования.
- 5) Изолят 8t проявляет чувствительность к четырем из 5 исследованных антибиотиков. Изолят 6z демонстрировал резистентность ко всем исследованным антибиотикам.