

Министерство науки и высшего образования РФ  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Специальность: 06.04.01 — Биология


ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Магистерская диссертация

Обнаружение генов биodeградации у почвенных микроорганизмов с  
помощью ПЦР

Работа завершена:

«4» 06 2022 г.




(К.С. Волков)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

с.б.н., доцент кафедры генетики

«5» 06 2022 г.



(Э.В. Бабынин)

И.о. заведующий кафедрой

с.б.н., доцент

«5» 06 2022 г.



(А.Р. Каюмов)

Казань — 2022

## СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	3
ВВЕДЕНИЕ .....	4
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	7
1 Биодegradация и её значение.....	7
2 Ферменты биодegradации нефти.....	8
2.1 Разложение алифатических углеводов.....	9
2.2 Разложение циклических углеводов.....	12
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	17
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	17
1 Характеристика исследуемых видов микроорганизмов.....	17
2 Питательные среды.....	19
3 Праймеры.....	19
4 Выделение ДНК.....	20
5 Полимеразная цепная реакция (ПЦР).....	21
6 Гель-электрофорез.....	21
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	22
1 Определение видов с генами биодegradации.....	22
1.1 Обнаружение генов алкан монооксигеназы.....	22
1.2 Обнаружение генов катехол 2,3-диоксигеназы.....	24
1.3 Обнаружение генов катехол 1,2-диоксигеназы.....	25
1.4 Обнаружение генов нафталин диоксигеназы.....	26
2 Построение филогенетических деревьев.....	27
3 Заключение.....	30
ВЫВОДЫ.....	31
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	32

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АИ	Активный ил
АУВ	Ароматические углеводороды
НДО	Нафталин диоксигеназа
УВ	Углеводороды
ЦТК	Цикл трикарбоновых кислот

## ВВЕДЕНИЕ

Нефтепродукты широко используются по всему миру и часто оказываются в окружающей среде. Углеводороды, попадая в почву и другие среды загрязняют окружающую среду, что представляет угрозу для природных экосистем и здоровья человека. Попадание нефти в почву приводит к изменению ее физических свойств, что влечет за собой вытеснение воздуха нефтью, нарушение поступления воды, питательных веществ, что является главной причиной торможения развития растений и их гибели [Сивцев; Профеевская, 2019]. Микробная деградация служит наиболее безопасным способом их удаления, а также может иметь экономическое преимущество по сравнению с другими методами, поскольку механические и физико-химические методы могут иметь невысокую степень очистки (механические), либо значительные экономические, энергетические затраты и сложное аппаратное оформление (физико-химические) [Коршунова с соавт., 2019]. Ещё одним недостатком применения химических веществ является их повышенная токсичность, а также вероятность вторичного загрязнения [Дмитриева; Герцен, 2021]. Компоненты, остающиеся в почве после разложения нефтяных продуктов бактериями представляют собой спирты, липиды и небольшое количество соединений жирных аминов, которые обладают очень низкой токсичностью [Li, X.; Chen, Y. et al., 2021]. Также механические и физико-химические методы рекультивации не способствуют восстановлению плодородия почв, а скорее сами наносят дополнительный ущерб природе [Данилова; Волкова, 2020].

Биодеградация углеводородов в почве проходит в два этапа. Первый этап включает поглощение углеводородов почвенными микробами, на которое влияет несколько факторов, таких как биодоступность углеводородов в почве (водная фаза), свойства почвы и условия окружающей среды. На втором этапе происходит деградация ПАУ микробами, которая во многом зависит от

биологической способности микробов [Temitayo, 2019]. Для эффективного процесса восстановления вовлеченным бактериям важно иметь полный путь деградации, чтобы не накапливались потенциально токсичные продукты деградации [Abd El-Latif Hesham, 2014]. Эффективность работы нефтеокисляющих микроорганизмов по разложению углеводов в почве во многом зависит от почвенно-климатических условий [Ветрова с соавт., 2018], поэтому целесообразным будет использование бактерий, приспособленных к такой среде. Деструкторы лучше развиваются в анаэробных условиях, в глубоких слоях почвы, где условия близки к анаэробным [Бабаев, 2019]. Представители родов *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* являются одними из самых распространенных бактерий в загрязненных нефтью почвах, наиболее эффективные ассоциации которых включают бактерии родов *Pseudomonas* и *Rhodococcus* [Фунтикова с соавт., 2017]. Применение консорциумов может еще больше повысить эффективность разложения углеводов, поскольку они обладают множественными метаболическими возможностями [Алимбетова и соавт., 2020].

Процесс ликвидации нефтяных загрязнений только механическими или физико-химическими методами не всегда достигает должного уровня очистки, поэтому более перспективным является использование нефтеразлагающих видов бактерий, которые наиболее полно осуществляют деструкцию нефтепродуктов [Терентьев; Козлова, 2020]. В связи с этим продолжает быть актуальным поиск новых микроорганизмов, имеющих гены дегградации углеводов, и выявление у них соответствующих генов.

Целью работы являлся поиск микроорганизмов, обладающих ферментами дегградации углеводов с помощью ПЦР.

В работе решались следующие задачи:

Выявить наличие генов алкан монооксигеназы AlkB у бактерий, выделенных почв, загрязненных углеводородами.

Выявить наличие генов катехол 2,3-диоксигеназы C23 у бактерий,

деленных из почв, загрязненных углеводородами.

Выявить наличие генов катехол 1,2-диоксигеназы C12 у бактерий, выделенных из почв, загрязненных углеводородами.

Выявить наличие генов нафталин диоксигеназы nah у бактерий, выделенных из почв, загрязненных углеводородами.

Построить филогенетические деревья генов алкан монооксигеназы, катехол-диоксигеназы, катехол 1,2-диоксигеназы и нафталин диоксигеназы у выделенных видов бактерий.

## СПРАВКА

Казанский (Приволжский) федеральный университет

о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

### ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Волков Кирилл Сергеевич  
Самоцитирование рассчитано для: Волков Кирилл Сергеевич  
Название работы: Волков. 01-040-1  
Тип работы: Не указано  
Подразделение:

### РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ

ЗАИМСТВОВАНИЯ		17.67%	ЗАИМСТВОВАНИЯ		19.33%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ		75.02%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ		79.42%
ЦИТИРОВАНИЯ		7.31%	ЦИТИРОВАНИЯ		1.25%
САМОЦИТИРОВАНИЯ		0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ		0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 06.06.2022

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 06.06.2022 16:44

Модули поиска: ИПС Адилет; Библиография; Сводная коллекция ЭБС; Интернет Плюс; Сводная коллекция РГБ; Цитирование; Переводные заимствования (RuEn); Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu); Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Переводные заимствования издательства Wiley (RuEn); eLIBRARY.RU; СПС ГАРАНТ; Модуль поиска "КПФУ"; Медицина; Диссертации НББ; Перефразирования по eLIBRARY.RU; Перефразирования по Интернету; Перефразирования по коллекции издательства Wiley; Патенты СССР, РФ, СНГ; СМИ России и СНГ; Шаблонные фразы; Кольцо вузов; Издательство Wiley; Переводные заимствования

Работу проверил: Бабынин Эдуард Викторович  
ФИО проверяющего

Дата подписи:



Подпись проверяющего



Чтобы убедиться в подлинности справки, используйте QR-код, который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего. Предоставленная информация не подлежит использованию в коммерческих целях.