

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

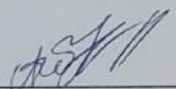
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Магистерская диссертация

Генетическая и фенотипическая характеристика штамма-деструктора
нефти *Pseudomonas stutzeri*

Работа завершена:

6 » 06 2022 г.



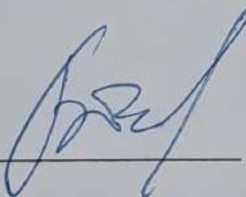
(Айрапетян Г. Б.)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

к.б.н., доцент

6 » 06 2022 г.



(Бабынин Э. В.)

И.о. зав. кафедрой

к.б.н., доцент

6 » 06 2022 г.



(Каюмов А. Р.)

Казань – 2022

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
ВВЕДЕНИЕ	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1 Метод биоремедиации	6
1.2 Микроорганизмы, участвующие в деструкции углеводов.....	7
1.3 Изучение биodeградации	11
1.4 Пути деструкции	19
1.5 Катехол-1,2-диоксигеназа и катехол-2,3-диоксигеназа.....	21
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	26
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	26
2.1 Штаммы и плазмиды	26
2.2 Питательные среды и условия культивирования	26
2.3 Измерение метаболической активности бактерий с помощью 2,6 — дихлорфенолиндофенола.....	29
2.4 Проверка на активность катехол-2,3-диоксигеназы	29
2.5 Выделение ДНК.....	29
2.6 Полимеразная цепная реакция (ПЦР)	30
2.7 Гель-электрофорез	30
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	31
3.1 Рост <i>Pseudomonas stutzeri</i> на различных углеводородах.....	31
3.2 Проверка на активность катехол-оксидазы.....	32
3.3 Вариабельность генов катехол 1,2-диоксигеназы и катехол-2,3- диоксигеназы у штаммов вида <i>Pseudomonas stutzeri</i>	33
3.4 Идентификация типа катехол 1,2-диоксигеназ у <i>Pseudomonas stutzeri</i>	36
3.5 Идентификация типа катехол 2,3-диоксигеназ у <i>Pseudomonas stutzeri</i>	38
ВЫВОДЫ	43
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	44

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДФ	Аденозиндифосфат
АТФ	Аденозинтрифосфат
АМФ	Аденозинмонофосфат
РАНs, ПАУ	Полициклические ароматические углеводороды
МАНs	Моноциклические ароматические углеводороды
НУ	Нефтяные углеводороды
ВТЕХ	Бензол, толуол, этилбензол и ксилены
ТСА	Соединения цикла трикарбоновой кислоты
ФРМ	Флавопротеиновые монооксигеназы
SDM	Двухжелезные многокомпонентные монооксигеназы
ARHD	Гидроксилирующие ароматические кольцевые углеводороды
2,3-CTD	Катехол-2,3-диоксигеназа
1,2-CTD	Катехол-1,2-диоксигеназа

ВВЕДЕНИЕ

Глобальное использование нефтяных углеводородов для производства энергии и сырья в различных целях увеличилось из-за обширного выброса самых разнообразных загрязняющих веществ в окружающую среду, влияющих на почву, поверхностные и грунтовые воды. В результате возникают многочисленные проблемы с окружающей средой [Ossai, 2018].

Загрязнение окружающей среды сырой нефтью и ее побочными продуктами, в основном состоящими из алифатических и ароматических углеводородов, является широко распространенной проблемой. Биоразложение бактериями является одним из процессов, ответственных за удаление этих загрязняющих веществ [Bacosa, 2021].

Биоремедиация — это технология, использующая метаболический потенциал микроорганизмов для очистки загрязненной окружающей среды [Kour, 2021].

Биоремедиация позволяет удалить или преобразовать вредные загрязнители, такие как тяжелые металлы, в менее вредные вещества; и/или удалить токсичные элементы из загрязненной окружающей среды; разложить органические вещества и окончательно минерализовать органические вещества в двуокись углерода, воду, газообразный азот и т. д. с использованием мертвой или живой биомассы [Karahi, 2019].

Процесс биоремедиации является полностью естественным процессом с очень небольшими побочными эффектами. Он выполняется на месте, создает относительно мало вредных побочных продуктов. Биоремедиация намного дешевле, чем большинство методов реабилитации, потому что она не требует значительного оборудования или рабочей силы [Verma, 2021].

Технологии биоремедиации являются полезными и устойчивыми решениями для извлечения загрязняющих веществ из экосистем [Pandey, 2022].

Процесс биоремедиации основан на комплексном подходе с использованием микробных сообществ, таких как актиномицеты, бактерии, грибы и дождевые черви [Singh, 2020].

Среди известных методов рекультивации почвы, загрязненной сырой нефтью, включая физическое разделение, химическое разложение, фотодеграцию и биоремедиацию, предпочтение отдается методу биоремедиации из-за его сравнительной эффективности, относительно низкой стоимости и экологичности по сравнению с другими методами [Ojewumi, 2018].

В процессе биоремедиации участвует ряд микробов, включая аэробные, анаэробные бактерии и грибы. Биоремедиация активно участвует в деградации, ликвидации, иммобилизации или детоксикации различных химических отходов и физически опасных материалов из окружающей среды за счет всеобъемлющего действия микроорганизмов [Sharma, 2020].

Целью работы являлось изучить фенотипические, генетические особенности штаммов *Pseudomonas stutzeri*.

В работе решались следующие **задачи**:

- 1) Установить, какие углеводороды *Pseudomonas stutzeri* из коллекции Татарского научно-исследовательского института агрохимии и почвоведения (Казань) может использовать в качестве источника углерода.
- 2) Установить активность для катехол-диоксигеназы у *Pseudomonas stutzeri*.
- 3) Создать праймеры для генов катехол 1,2-диоксигеназы и катехол-2,3-диоксигеназы.
- 4) С помощью ПЦР выявить наличие генов катехол 1,2-диоксигеназ и катехол-2,3-диоксигеназ у *Pseudomonas stutzeri*.

СПРАВКА

Казанский (Приволжский) федеральный университет

о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Айрапетян Грэтта Борисовна
Самоцитирование
рассчитано для: Айрапетян Грэтта Борисовна
Название работы: Генетическая и фенотипическая характеристика штамма-деструктора нефти *Pseudomonas stutzeri*
Тип работы: Не указано
Подразделение: ИФМиБ

РЕЗУЛЬТАТЫ

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

ЗАИМСТВОВАНИЯ		12.27%	ЗАИМСТВОВАНИЯ		14.31%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ		65.74%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ		85.11%
ЦИТИРОВАНИЯ		21.99%	ЦИТИРОВАНИЯ		0.58%
САМОЦИТИРОВАНИЯ		0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ		0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 05.06.2022

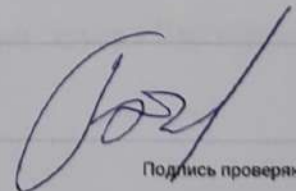
ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 05.06.2022 21:55

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.