

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ
РАБОТА

Регуляция синтеза антибактериальных соединений у штаммов
Rhizobium leguminosarum

Выполнил: Поздеев Данила Юрьевич

Направление подготовки 06.03.01 —
Биология, профиль —
Микробиология

Руководитель: д.б.н., доцент Баймиев
Алексей Ханифович

Выпускная квалификационная
работа допущена к защите:
«__» июня 2025 г.

Выпускная квалификационная
работа защищена с оценкой
« хорошо »
« 23 » июня 2025 г.

Уфа - 2025

Оглавление:

Список сокращений и условных обозначений.....	4
Введение.....	5
Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	7
1.1 Генетические механизмы активации антибактериальных соединений	7
1.1.1 Регуляторные гены.....	7
1.1.2 Гены устойчивости к антибиотикам	8
1.2. Сигналы от растения-хозяина.....	9
1.2.1. Флавоноиды	9
1.2.2. Корневые экссудаты	10
1.2.3. Стрессовые сигналы растения	11
1.3. Взаимодействие с другими микроорганизмами	11
1.4. Практическое применение в сельском хозяйстве	12
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	13
2.1 Объекты исследования.....	13
2.2 Методы исследования.....	13
2.2.1 Приготовление питательных сред	13
2.2.2 Получение бактериального газона.	13
2.2.3 Анализ ризобий на продукцию антибактериальных соединений.....	14
2.2.4 Анализ влияния присутствия живых и инактивированных культур иностраных бактерий на синтез АС ризобиями.....	14
2.2.5 Анализ влияния экссудатов и экстрактов корней растений на синтез АС ризобиями.....	15
2.2.6 Анализ влияния растительных флавоноидов на синтез АС ризобиями.	16
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ	19

Заключение	24
Выводы:	25
Список литературы	26

Список сокращений и условных обозначений

АС - антибактериальные соединения

R. - *Rhizobium*

ЭПС - экзополисахариды

ДДС - додецилсульфат натрия

TFX – трифолитоксин

ПЦР – полимеразная цепная реакция

GABA - γ -аминомасляная кислота

Введение

Ризобии – почвенные грамотрицательные бактерии, которые способны формировать азотфиксирующие клубеньки на корнях различных бобовых растений. Однако прикорневая зона растений (ризосфера), богатая питательными веществами, выделяемыми корнями, является привлекательным местом обитания для самых различных почвенных микроорганизмов. Поэтому ризобиям для успешной колонизации и инфицирования корней растения-хозяина необходимо противостоять в конкурентной борьбе другим близкородственным бактериям и посторонней микрофлоре ризосферы. Для этого они используют различные механизмы, включая продукцию антибактериальных соединений (АС).

Исследования антибактериальной активности у 1019 штаммов ризобий *Rhizobium leguminosarum* и *Neorhizobium galegae* из коллекции симбиотических ризосферных микроорганизмов показали, что более 10% из них выделяют в среду АС при культивировании на среде RM.

Таким образом, синтез АС ризобиями довольно распространенное явление и активно используется ими в конкурентной борьбе за колонизацию ризосферы и формирования клубеньков на корнях бобовых растений. Тем не менее, остается открытым вопрос о регуляции данного явления. Исходя из достаточно высокой энергоемкости процесса можно предположить, что вряд ли АС синтезируются ризобиями в почве перманентно.

Актуальность

Регуляция синтеза антибактериальных соединений у штаммов *Rhizobium leguminosarum* представляет собой важную область исследований ввиду регулирования продукции антибиотиков, которые влияют на структуру микробных сообществ в почве, что имеет значение для поддержания здоровья

экосистем. Понимание этих процессов позволяет управлять взаимодействием микроорганизмов в агроэкосистемах.

Цель исследования:

Целью данной работы являлось исследование условий активации способности к подавлению роста родственных бактерий у штаммов ризобий *Rhizobium leguminosarum* и *Neorhizobium galegae*, вступающих в симбиоз с дикорастущими бобовыми Южного Урала.

Для достижения цели исследования необходимо решить ряд конкретных задач:

- 1) Анализ влияния присутствия живых и инактивированных культур инородных бактерий на синтез АС ризобиями
- 2) Анализ влияния экссудатов и экстрактов корней растений на синтез АС ризобиями
- 3) Анализ влияния растительных флавоноидов на синтез АС ризобиями

Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Для детального анализа рассмотрим следующие аспекты - генетические механизмы активации антибактериальных соединений, сигналы от растения-хозяина и взаимодействие с другими микроорганизмами.

1.1 Генетические механизмы активации антибактериальных соединений

Генетическая регуляция синтеза антибактериальных соединений у *Rhizobium leguminosarum* включает кластеры генов, ответственные за биосинтез экзополисахаридов (ЭПС), регуляторные белки и системы устойчивости. Эти механизмы активируются в ответ на стрессовые условия или сигналы от растения-хозяина.

1.1.1 Регуляторные гены

Ген *rosR*

Этот ген кодирует транскрипционный фактор семейства Ros/MucR, который контролирует экспрессию генов, связанных с синтезом ЭПС, подвижностью и формированием биопленок. Для его активации необходим, например, дефицит кальция (Ca^{2+}): При концентрации $\text{Ca}^{2+} < 0.1$ мМ *rosR* компенсирует нарушение структуры биопленок за счет усиления синтеза ЭПС. Додецилсульфат натрия (ДДС) в концентрации 0.05% индуцирует экспрессию *rosR*, что повышает устойчивость к лизису.

Пример: Рекомбинантный штамм *R. leguminosarum* VSy12 с дополнительной копией *rosR* формирует биопленки в 1.5 раза плотнее дикого типа при стрессе, вызванном ДДС. Это подтверждает роль *rosR* в адаптации к поверхностно-активным веществам.

Кластер PSS

Рассматривая кластер pss необходимо подробнее рассмотреть гены pssA и pssB:

- 1) pssA кодирует гликозилтрансферазу, участвующую в инициации синтеза ЭПС.
- 2) pssB действует как негативный регулятор, подавляя избыточное производство ЭПС.

Мутации в pssA приводят к полной утрате ЭПС и снижению устойчивости к антибактериальным пептидам растений (например, дефензинам).

Делеция pssB увеличивает продукцию ЭПС на 40%, но делает клетки уязвимыми к осмотическому стрессу.

Пример: Штамм *R. leguminosarum* 24.2 с делецией pssA не способен формировать биопленки на корнях клевера, что снижает его конкурентоспособность в ризосфере.

Гены prsD/prsE

Они кодируют компоненты системы секреции типа I, необходимые для экспорта белков, модифицирующих ЭПС. Для их активации необходимы сигналы от корневых экссудатов (например, флавоноиды), которые усиливают экспрессию prsD/prsE.

Пример: Мутанты prsD теряют способность секретировать адгезины, что снижает адгезию к корням растений на 70%.

1.1.2 Гены устойчивости к антибиотикам

Один из данных генов это - ген tfx. Он кодирует трифолитоксин (TFX) — рибосомально синтезируемый пептидный антибиотик, модифицированный посттрансляционно. Подавляет рост α -протеобактерий (например,

Agrobacterium, *Brucella*). Для активации данного гена необходима конкуренция в ризосфере и какие-либо стрессовые условия (например, дефицит железа).

При конкуренции в ризосфере присутствие близкородственных штаммов активирует *tfx* через систему Quorum Sensing.

Например, штамм *R. leguminosarum* T24 продуцирует TFX, который ингибирует рост *Agrobacterium vitis* CG78 в 3 раза сильнее, чем у контрольного штамма.

1.2. Сигналы от растения-хозяина

Активация антибактериальных соединений у *Rhizobium leguminosarum* тесно связана с химическими сигналами, которые растение выделяет в ризосферу. Эти сигналы регулируют симбиотические взаимодействия и усиливают защитные механизмы бактерий.

1.2.1. Флавоноиды

Флавоноиды — вторичные метаболиты растений, которые служат ключевыми индукторами *nod*-генов ризобий. Они активируют транскрипционный регулятор NodD, запускающий синтез Nod-факторов, необходимых для клубенькообразования. Параллельно флавоноиды стимулируют синтез антибактериальных соединений, таких как бактериоцины и ЭПС.

Механизм активации:

Связывание флавоноидов с NodD приводит к конформационным изменениям белка, что позволяет ему связываться с промоторами *nod*-генов.

Активированные *nod*-гены запускают каскад реакций, включая синтез липохитиновых олигосахаридов (*Nod*-факторов) и усиление экспрессии генов кластера *pss* (например, *pssA*), ответственных за биосинтез ЭПС.

Рассматривая некоторые из флавоноидов можно выделить следующие:

Нарингенин (экссудат клевера):

Увеличивает экспрессию *nodA* и *pssA* в 5–7 раз, что подтверждено ПЦР в реальном времени, а также стимулирует синтез трифолитоксина — антибактериального пептида, подавляющего рост *Agrobacterium tumefaciens*.

Генистеин (экссудат сои):

Активирует систему секреции III типа (T3SS), которая подавляет фитопатогены через инъекцию эффекторных белков.

При концентрации 10 мкМ увеличивает продукцию ЭПС на 30%.

1.2.2. Корневые экссудаты

Органические кислоты (малат, цитрат)

Они служат источниками углерода для ризобий, усиливая их метаболическую активность.

Малат (в концентрации 1–5 мМ) индуцирует экспрессию генов *prsD/prsE*, кодирующих компоненты системы секреции белков, что повышает адгезию бактерий к корням.

Цитрат активирует синтез сидерофоров, которые конкурируют с патогенами за железо.

γ-аминомасляная кислота (GABA)

Данная кислота подавляет защитные реакции растения (например, синтез активных форм кислорода), создавая благоприятные условия для колонизации ризобий.

GABA (0.1–1 мМ) увеличивает экспрессию гена *garA1*, связанного с устойчивостью к антибактериальным пептидам растений.

1.2.3. Стрессовые сигналы растения

При атаке патогенов (например, *Fusarium*) растение выделяет:

Салициловую кислоту: Индуцирует синтез ризобиями фенольных соединений, подавляющих грибковые гифы.

Жасмоновую кислоту: Активирует гены *groN* и *groH*, которые усиливают устойчивость бактерий к окислительному стрессу.

В итоге сигналы от растения-хозяина (флавоноиды, органические кислоты, GABA) играют ключевую роль в активации антибактериальных соединений у *R. Leguminosarum*, они регулируют экспрессию генов (*nod*, *pss*, *prs*), синтез ЭПС и бактериоцинов и устойчивость к стрессу.

1.3. Взаимодействие с другими микроорганизмами

Антибактериальная активность *Rhizobium leguminosarum* проявляется не только в ответ на сигналы растения, но и в условиях конкуренции с другими микроорганизмами в ризосфере. Это включает подавление патогенов и синергию с полезными симбионтами.

Например, механизмы подавления через синтез бактериоцинов и сидерофоры.

Синтез бактериоцинов:

R. leguminosarum продуцирует узкоспецифичные пептиды (например, фазаолицин), которые ингибируют рибосомы близкородственных бактерий (например, *Agrobacterium*).

Сидерофоры:

Секреция железосвязывающих молекул (например, вициамина) лишает патогены доступа к Fe^{3+} , критичному для их роста.

1.4. Практическое применение в сельском хозяйстве

Использование *Rhizobium leguminosarum* в комбинации с другими микроорганизмами позволяет создавать экологичные агротехнологии, снижая зависимость от химических удобрений и пестицидов.

Биопрепараты на основе микробных консорциумов

R. leguminosarum + *Pseudomonas putida* + *Trichoderma harzianum*: повышает урожайность гороха на 25% в засоленных почвах за счет синергии азотфиксации, солюбилизации фосфатов и подавления патогенов.

R. leguminosarum + *Glomus intraradices*: увеличивает содержание белка в семенах сои на 18% и снижает потребность в фосфорных удобрениях на 40%.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты исследования

Объектами исследования в данной работе служил 51 штамм ризобий, обладающих некоторой антибактериальной активностью, *Rhizobium leguminosarum* и *Neorhizobium galegae* из коллекции симбиотических ризосферных микроорганизмов «Симбионт» ИБГ УФИЦ РАН.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Приготовление питательных сред

В работе использовали 3 разные по составу питательные среды.

1. YM:

1% маннитол, 0,01% NaCl, 0,05% K₂HPO₄, 0,02% MgSO₄, 0,04% дрожжевой экстракт.

2. TY:

1% триптон, 0,1% дрожжевой экстракт, 0,1% CaCl₂.

3. RM:

1% маннитол, 0,01% NaCl, 0,05% K₂HPO₄, 0,02% MgSO₄, 0,1% дрожжевой экстракт.

Стерилизацию чашек проводили в автоклаве при 121°C в течение 30 минут.

2.2.2 Получение бактериального газона.

Для получения бактериального газона использовали штаммы клубеньковых бактерий из коллекции “Симбионт” ИБГ УФИЦ РАН: *R. leguminosarum* bv. *viciae* VSyl9, изолированный из клубенька горошка лесного и *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* PVu2 из клубенька фасоли обыкновенной. Оба

штамма не проявляли антагонистической активности по отношению к родственным бактериям. На чашку Петри с агаризованной низкоуглеводной питательной средой ТУ (1% триптон, 0.1% дрожжевой экстракт, 0.1% CaCl_2) наносили 3 мл двухсуточной культуры бактерий, инкубированной в термостатируемом шейкере ES-20 при 28°C. Покачивали чашку Петри до равномерного распределения жидкости, оставшуюся часть которой удаляли, используя дозатор со сменными стерильными наконечниками. После этого чашки Петри оставляли приоткрытыми для подсушивания посева в боксе микробиологической безопасности БМБ-II “Ламинар-С”-1,2. Далее бактерии инкубировали в термостате при 28°C в течение суток.

2.2.3 Анализ ризобий на продукцию антибактериальных соединений.

Для анализа на продукцию АС штаммы ризобий из коллекции после криохранения высаживали на твердую питательную среду УМ. Далее наращивали бактериальную суспензию исследуемых штаммов в 4 мл питательной среды RM (1% маннитол, 0.01% NaCl , 0.05% K_2HPO_4 , 0.02% MgSO_4 , 0.1% дрожжевой экстракт, pH 6.8) в 15 мл пробирках типа Falcon. Пробирки инкубировали в термостатируемом шейкере ES-20 при 28°C в течение 2 суток. Для анализа продукции бактериями АС отбирали по 500 мкл суспензии и переносили в стерильные пробирки эппендорф. Затем осаждали бактерии при 8000 об/мин в течение 5 мин в центрифуге MiniSpinPlus. Далее на бактериальный газон наносили по 0.5 мкл непосредственно суспензии клеток и по 5 мкл надосадочной жидкости. Чашки помещали на сутки в термостат на 28°C для ризобияльного газона. По окончании инкубации проводили визуальную оценку зон подавления роста газона бактерий с помощью гель-документирующей системы ChemiDoc MP. Результаты наличия антибактериальной активности оценивали по размеру пятна подавления роста.

2.2.4 Анализ влияния присутствия живых и инактивированных культур инородных бактерий на синтез АС ризобиями.

Культуры ризобий наращивали в жидкой питательной среде RM на качалке при 28°C и 190 об/мин до концентрации 1×10^8 КОЕ/мл. Далее в пробирки типа Falcon объемом 15 мл, содержащие по 4 мл питательной среды RM, вносили по 500 мкл культуры исследуемого штамма. Затем в часть пробирок добавляли по 100 мкл живой культуры инородных бактерий (1×10^8 КОЕ/мл). В другую часть пробирок добавляли лизированные культуры инородных бактерий, полученные путем прогревания 500 мкл бактериальной суспензии при 60°C в течение 30 мин в термостате. После образцы инкубировали в термостатируемом шейкере ES-20 при 28°C и 190 об/мин в течение 3 и 6 часов. Контрольные культуры ризобий выращивали при вышеописанных условиях без добавления других бактерий. Далее образцы наносили на бактериальный газон для оценки антибактериальной активности по схеме, описанной выше.

2.2.5 Анализ влияния экссудатов и экстрактов корней растений на синтез АС ризобиями.

Для опытов поверхность семян стерилизовали в течение 1 мин в 70% спирте и затем 20 минут в 5% растворе гипохлорита натрия. Затем семена отмывали в стерильной воде и проращивали в течение 1-2 недель на влажной фильтровальной бумаге в стерильных чашках Петри.

Для получения корневых экссудатов проростки в стерильных условиях окунали корнями в пробирку с фосфатным буфером (рН 7) на ночь. Затем проростки вынимали, а содержимое пробирок центрифугировали. Супернатант стерилизовали, пропуская через фильтрующие насадки (d пор 0.20 мкм).

Для приготовления экстрактов корешки проростков отрезали и растирали в фосфатном буфере (рН 7). Получившуюся массу центрифугировали и супернатант пропускали через бактериальные фильтры (диаметр пор 0.20 мкм).

Далее от 10 до 100 мкл фильтрата добавляли в пробирки типа Falcon (15 мл) содержащие 4 мл среды RM. Бактериологической петлей вносили анализируемую культуру бактерий и инкубировали при 28°C в течение двух суток при активном перемешивании (190 об/мин) в термостатируемом шейкере ES-20. Далее осуществляли раскапывание на бактериальный газон согласно схеме исследования.

2.2.6 Анализ влияния растительных флавоноидов на синтез АС ризобиями.

Для опытов в пробирки типа Falcon (15 мл) со средой 4 мл добавляли различные растительные флавоноиды до конечной концентрации 100 нМ. Затем бактериологической петлей вносили культуру бактерий. Инкубировали при 28°C в течение двух суток при активном перемешивании (190 об/мин) в термостатируемом шейкере ES-20. Далее осуществляли раскапывание на бактериальный газон согласно схеме исследования. Для анализа были использованы следующие флавоноиды: апигенин, генистеин, кверцетин, гесперидин, нарингенин и таксифолин.

Далее исследовали влияние на синтез АС ризобиями со стороны растений. Для этого предварительно поверхностно простерилизованные семена бобовых растений-хозяев: гороха посевного, клевера гибридного, козлятника восточного и фасоли обыкновенной проращивали в стерильных условиях на мокрой фильтровальной бумаге до стадии, когда на их корнях в природе начинают формироваться клубеньки (1-2 недели). Анализировали отдельно влияние на синтез АС ризобиями экстрактов растертых корней и корневых экссудатов.

Экстракты, полученные путем растирания корней гороха посевного, клевера гибридного, козлятника восточного и фасоли обыкновенной в фосфатном буфере и фильтрация через бактериальные фильтры добавляли

к 5 мл свежей среды RM, засеянной тестируемыми штаммами ризобий. После двух суток инкубации образцы тестировали на газонах бактерий.

Экссудаты корней гороха посевного, клевера гибридного, козлятника восточного и фасоли обыкновенной получали инкубированием корней проростков в пробирках с фосфатным буфером (рН 7) в течение ночи. Жидкость после центрифугирования пропускали через бактериальные фильтры и добавляли к 5 мл среды RM, засеянной тестируемыми штаммами ризобий. Поскольку после двух суток инкубации среда, несмотря на очистку от бактерий зарастала посторонней микрофлорой, препараты экстрактов корней добавляли только в конце вторых суток инкубации, за несколько часов до остановки культивирования. Затем образцы тестировали на газонах бактерий.

Одними из активных соединений, выделяемыми корнями бобовых растений и запускающими процесс установления симбиоза с клубеньковыми бактериями, являются флавоноиды. В норме, различные флавоноиды выделяются корнями высших растений и, являясь ингибиторами почвенной микрофлоры, обеспечивают защиту растения от фитопатогенных микроорганизмов. Однако, у ризобий, в отличие от других микроорганизмов, не наблюдали подавления роста при воздействии флавоноидов бобовых растений и даже показан хемотаксис ризобий на флавоноиды-индукторы. Высвобождение специфических флавоноидов (или смесей) бобовым растением распознается только некоторыми видами ризобий, что частично определяет специфичность симбионта-хозяина (люцерна – лютеолин, горох – эпигенин, клевер – 4,7-дигидроксифлавоон, фасоль – эридиктиол, нарингенин, 7-0-гликозид генистеина. Флавоноиды диффундируют через мембрану ризобий и связываются с белками NodD в ризобиях, которые затем активируют транскрипцию генов Nod, участвующих в синтезе факторов образования клубеньков (Nod-факторы).

Флавоноиды также вызывают накопление ауксина в тканях корня, что инициирует образование и дифференцировку клубеньков. Кроме того, флавоноиды регулируют развитие клубеньков и устойчивость к фитоалексину у ризобий. Таким образом, эти сигнальные соединения регулируют поведение микроорганизмов-партнеров вплоть до уровня экспрессии генов.

С целью проверки гипотезы, что именно флавоноиды являются причиной увеличения пятен подавления роста газона бактерий, в среду RM, засеянную тестируемыми штаммами ризобий добавляли различные растительные флавоноиды до конечной концентрации 100 нМ. Были использованы следующие флавоноиды: апигенин, генистеин, кверцетин, гесперидин, нарингенин и таксифолин. После инкубирования в течение двух суток культуру центрифугировали и супернатант рассеивали на газон бактерий *R. leguminosarum* bv. *viciae* VSyl9 и *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* PVu2 (табл. 1)

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследования показывают, что у ризобий продукция АС во время ранней и средней экспоненциальной фазы роста в жидкой культуре происходит спонтанно. Однако, поскольку для прокариот характерна оперонная организация генома и быстрая смена метаболизма в ответ на биотические и абиотические стрессы, можно предположить, что конститутивный синтез АС у ризобий происходит только на богатых питательных средах. Действительно, наши исследования показали, что уровень синтеза АС у *R. leguminosarum* меняется от состава питательной среды. Кроме того, когда на бактериальный газон наносилась живая культура ризобий, процент штаммов, проявивших антибактериальную активность и площадь зоны подавления роста в среднем были больше по сравнению с нанесением просто культуральной среды. Можно предположить, что в некоторых случаях синтез антибактериальных соединений активируется в присутствии бактерий газона. Для подтверждения гипотезы нами были исследованы условия индукции синтеза антибактериальных соединений клубеньковыми бактериями рода *Rhizobium*.

Поскольку бактериоцины ризобиям нужны для успешной конкуренции с окружающей микрофлорой при формировании симбиоза с растением, были исследованы активация и уровень синтеза антибактериальных соединений при взаимодействии ризобий с бактериальными и растительными компонентами окружения.

Анализ влияния присутствия живых и инактивированных культур инородных бактерий на синтез АС ризобиями:

Логично предположить, что на синтез АС влияет наличие рядом других бактерий. Для проверки предположения каждый из 51 исследуемых штаммов ризобий сокультивировали по отдельности с живыми и инактивированными клетками ризосферных бактерий *R. leguminosarum* bv. *viciae* VSyl9, *R.*

leguminosarum bv. *phaseoli* PVu2, *Pseudomonas* sp 2.4.1 и лабораторным штаммом *E. coli* JW5503(Δ tolC) в течение 3 и 6 часов. Далее по 0.5 мкл непосредственно суспензии клеток и по 5 мкл надосадочной жидкости наносили на бактериальный газон. Однако ни на одном из использованных газонов *R. leguminosarum* bv. *viciae* VSyl9 и *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* PVu2, заметных изменений размеров пятна подавления роста по сравнению с контролем не наблюдалось.

Такой же эксперимент провели с 50 штаммами ризобий *R. leguminosarum*, не проявляющих антагонизма при культивировании на среде RM. Однако предположение, что, возможно, присутствие чужих бактерий может инициировать синтез АС у неактивных штаммов, не подтвердилось. Ни в одном случае воспроизводимо детектируемых зон подавления обнаружено не было. Таким образом, можно сделать вывод, что синтез АС у исследованных нами ризобий не зависит от присутствия в окружении чужеродных бактерий.

Анализ влияния экссудатов и экстрактов корней растений на синтез АС ризобиями:

Эксперименты показали, что добавление экстрактов корней подавляет рост бактерий как в самой культуре тестируемых ризобий, так и в газоне. Подавление роста бактерий газона наблюдалось и в контроле, где раскапывали среду RM с экстрактом корней без ризобий. Несмотря на использование различных концентраций экстрактов и времени инкубации вычленить влияние действия экстрактов на синтез АС ризобиями, к сожалению, не удалось.

Как и в случае с экстрактами, экссудаты корней подавляли рост бактерий газона и в опыте, и в контроле, хотя и в меньшей степени. Однако было замечено, что подавление роста имеет неравномерный характер – некоторые штаммы ризобий при добавлении в культуру корневых экссудатов заметно увеличивали ореол подавления газона по сравнению с остальными. К

сожалению, отделить антибактериальное воздействие растительных метаболитов от бактериальных, производимых ризобиями, не получилось. Тем не менее, можно было констатировать, что корневые экссудаты содержат метаболиты, активирующие синтез АС ризобиями.

Анализ влияния растительных флавоноидов на синтез АС ризобиями:

Как показали опыты, добавление растительных флавоноидов действительно может активировать синтез АС штаммами ризобий. Как можно видеть из таблицы 1, все использованные в работе флавоноиды в той или иной степени увеличивали выработку АС у части исследованных штаммов клубеньковых бактерий. При этом диаметр пятна подавления роста увеличивался от 1.2 до 5 раз (рис. 1).

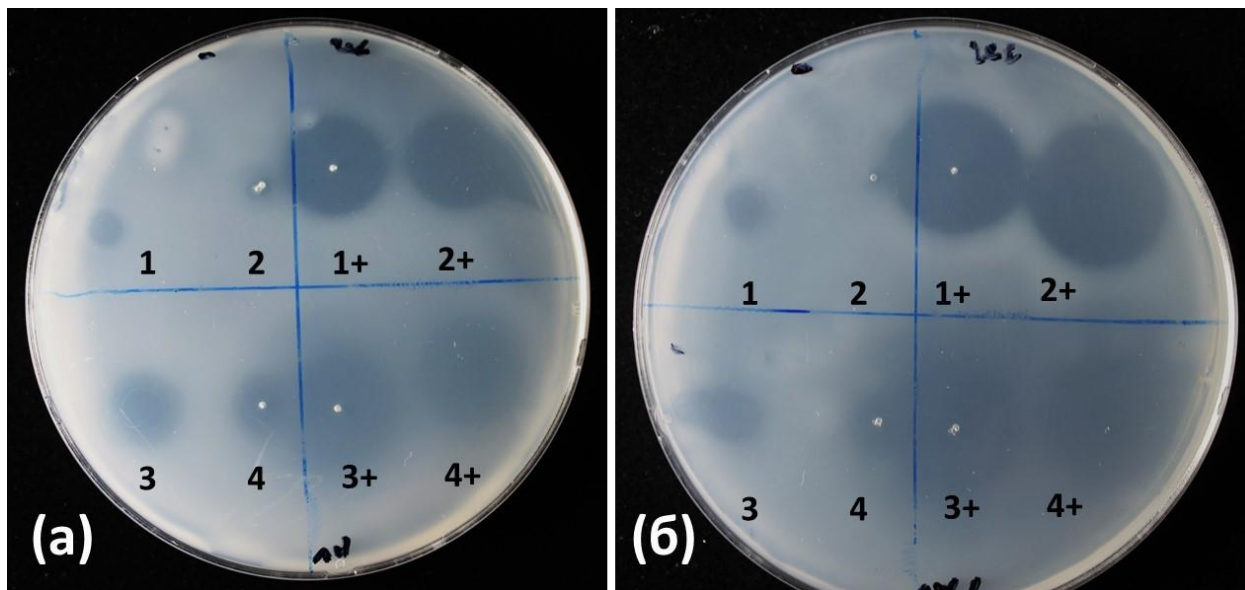


Рис. 1. Примеры подавления роста газона бактерий штамма *R. leguminosarum* bv. *viciae* VSyl9, метаболитами 4 штаммов ризобий, изолированных из клубеньков чины весенней: 1, 2, 3, 4 – без добавления флавоноидов; 1+, 2+, 3+, 4+ – с добавлением флавоноидов; а – гесперидин; б – нарингенин.

Таблица 1

Активация подавления роста клеток газона бактерий метаболитами и живыми культурами ризобий, обработанных различными флавоноидами

Растение-хозяин (количество штаммов)	Апигенин				Генистеин				Кверцетин				Гесперидин				Нарингенин				Таксифолин			
	штамм бактерий газона																							
	VSyl9		PVu2		VSyl9		PVu2		VSyl9		PVu2		VSyl9		PVu2		VSyl9		PVu2		VSyl9		PVu2	
	o	?	o	?	o	?	o	?	o	?	o	?	o	?	o	?	o	?	o	?	o	?	o	?
Горошек лесной (1)	-	-	1	-	1	-	1	-	1	1	1	-	1	1	1	-	1	1	1	1	1	-	1	-
Горошек заборный (11)	4	4	5	4	4	5	6	5	5	4	6	4	6	7	6	7	8	7	6	6	7	6	5	5
Чина бледноватая (1)	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	1	1
Чина болотная (1)	1	1	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-	1	-	1	1	1	1	1	2	2	1	1
Чина лесная (3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	1	1	-	-	1	-
Чина клубненосная (2)	-	-	-	1	1	-	-	1	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Чина гороховидная (3)	-	-	3	1	-	-	3	-	2	-	3	-	1	-	2	2	-	-	1	1	2	1	2	2
Чина луговая (2)	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Чина весенняя (14)	3	3	8	4	1	-	4	2	5	4	5	2	7	8	7	6	7	5	7	6	4	3	5	2
Чина Гмелина (3)	-	-	2	2	1	-	1	2	1	1	2	3	-	-	2	1	1	1	1	1	-	-	1	2
Клевер гибридный (8)	4	5	4	6	3	5	1	1	2	2	1	1	8	8	1	2	8	8	2	3	6	4	2	3
Козлятник восточный (2)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1	-	-	1	1	-	1	2	1	1	1	1	-	1
Всего штаммов из 51	15	16	25	20	14	13	21	16	21	15	23	15	25	28	23	24	30	27	23	23	25	19	21	20
Общее число активированных штаммов на флавоноид	76				64				74				100				103				85			

° - укол бактериями, ? - культуральная жидкость.

В то же время нанесение флавоноидов на бактериальные газоны, в использованных в работе концентрациях, не вызывали детектируемых изменений его роста. Также добавление флавоноидов в культуры штаммов ризобий, не показывающих антибактериальной активности, не приводили к проявлению данных свойств.

Эффект от добавления флавоноидов варьировал в достаточно широких пределах от опыта к опыту у одного и того же штамма ризобий, что, возможно, свидетельствует о триггерном механизме их действия. Об этом же говорит и то, что усиление антибактериальной активности наблюдается не только при раскапывании на газон культуральной жидкости, но и посеве активированной флавоноидами живой культуры ризобий.

Наибольший эффект был достигнут при использовании флавоноидов генистеина и нарингенина. Хотя по данным литературы активация синтеза Nod-факторов у ризобий *R. leguminosarum* bv. *viciae* (симбионтов, использованных в работе бобовых трибы *Fabeae*) довольно специфично активируется апигенином, который в наших опытах показал не лучшие результаты. Вполне очевидно, что активация синтеза АС у исследуемых ризобий не опосредована белком-рецептором NodD. К такому же выводу пришли и Parniske с соавторами, обнаружившие, что после инкубации в низких концентрациях флавоноидов генистеина и дайдзеина ризобии *Bradyrhizobium japonicum* и *Sinorhizobium fredii* становятся устойчивыми к фитоалексину глицеолину.

Заключение

В рамках данной работы проводится исследование определения условий активации антибактериальных соединений у *Rhizobium leguminosarum*. Для проведения экспериментов были использованы образцы штаммы клубеньковых бактерий из коллекции “Симбионт” ИБГ УФИЦ РАН. Полученные результаты позволят глубже понять механизмы синтеза АС у *Rhizobium leguminosarum*.

После проведенной работы, было выявлено, что уровень синтеза антибактериальных соединений у ризобий не зависит от наличия в культуральной среде инородных бактерий или их компонентов. Однако синтез антибактериальных соединений может кратно увеличиваться под воздействием растительных флавоноидов. Таким образом, именно растение способно регулировать синтез антибактериальных соединений у клубеньковых бактерий.

Выводы:

1. Анализ влияния присутствия в культуре живых и инактивированных инородных бактерий показал, что синтез АС у исследованных нами ризобий не зависит от присутствия в окружении чужеродных бактерий.

2. Добавление экстрактов и экссудатов корней подавляли рост бактерий газона и в опыте, и в контроле, хотя и в меньшей степени. Тем не менее, можно констатировать, что корневые экссудаты содержат метаболиты, активирующие синтез АС ризобиями.

3. Добавление растительных флавоноидов активирует синтез АС штаммами ризобий в культуре. Все использованные в работе флавоноиды в той или иной степени увеличивали выработку АС у части исследованных штаммов клубеньковых бактерий. Наибольший эффект был достигнут при использовании флавоноидов генистеина и нарингенина.

Список литературы

1. Баймиев Ал.Х., Владимирова А.А., Матниязов Р.Т., Лавина А.М., Филяева К.Ю., Акимова Е.С., Баймиев Ан.Х. Распространенность способности подавления роста родственных штаммов у ризобий // Микробиология. 2023. Т.92. № 6. С. 625–630.
Baymiev Al.Kh., Vladimirova A.A., Matniyazov R.T., Lavina A.M., Filyaeva K.Yu., Akimova E S., Baymiev An.Kh. Occurrence of the ability to suppress the growth of related strains in rhizobia // Microbiology. 2023. V. 92. №. 6. P. 854–859.
2. Armitage J.P., Gallager A., Johnston A.W.B. Comparison of the chemotactic behaviour of *Rhizobium leguminosarum* with and without the nodulation plasmid // Molec. Microbiol. 1988. V. 2. № 6. P. 743–748.
3. Cha C., Gao P., Chen Y-C., Shaw P.D., Farrand S.K. Production of acyl-homoserine lactone quorum-sensing signals by Gramnegative plant-associated bacteria // Mol. Plant-Microbe Interact. 1998. V. 11. № 11. P. 1119–1129.
4. Cooper J.E. Multiple responses of rhizobia to flavonoids during legume root infection // Adv. Bot. Res. 2004. V. 41. P. 1–62.
5. d’Arcy Lameta A., Jay M. Study of soybean and lentil root exudates. Influence of soybean isoflavonoids on the growth of rhizobia and some rhizospheric microorganisms // Plant. Soil. 1987. V. 101. № 2. P. 267–272.
6. de Velde V.W., Zehirov G., Szatmari A., Debreczeny M. Plant peptides govern terminal differentiation of bacteria in symbiosis // Science. 2010. V. 327. № 5969. P. 1122–1126.
7. Diaz C.L., Melchers L.S., Hooykaas P.J.J., Lugtenberg B.J.J., Kijne J.W. Root lectin as a determinant of host-plant specificity in the *Rhizobium*-legume symbiosis // Nature. 1989. V. 338. P. 579-581.
8. Dong W., Song Y. The significance of flavonoids in the process of biological nitrogen fixation // Int. J. Mol. Sci. 2020 V. 21. № 16. P. 5926.

9. *Fuqua W.C., Winans S.C., Greenberg E.P.* Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators // *J. Bacteriol.* 1994. V. 176. № 2. P. 269–275.
10. *Hartwig U.A., Joseph C.M., Phillips D.A.* Flavonoids released naturally from alfalfa seeds enhance growth rate of *Rhizobium meliloti* // *Plant Physiol.* 1991. V. 95. № 3. P. 797–803.
11. *Hassan S., Mathesius U.* The role of flavonoids in root–rhizosphere signalling: opportunities and challenges for improving plant–microbe interactions // *J. Exp. Bot.* 2012. V. 63. P. 3429–3444.
12. *Hirsch P.R.* Plasmid-determined bacteriocin production by *Rhizobium leguminosarum* // *J. Gen. Microbiol.* 1979. V. 113. № 2. P. 219–228.
13. *Hungria M., Joseph C.M., Phillips D.A.* Anthocyanidins and flavonols, major *nod*-genes inducers from seeds of a black-seeded common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) // *Plant Physiol.* 1991. V. 97. № 2. P. 751–758.
14. *Lethbridge B.J., Asenstorfer R.E., Bailey L.S., Breil B.T., Johnson J.V., Jones G.P., Rumjanek V., Sims J.J., Tate M.E., Triplett E.W.* Post translational modifications of Trifolitoxin: a blue fluorescent peptide antibiotic // *The Journal of Antibiotics.* 2022. V. 75. № 3. P. 125–135.
15. *Lithgow J.K., Wilkinson A., Hardman A., Rodelas B., Wisniewski-Dyé F., Williams P. Downie J.A.* The regulatory locus *cinRI* in *Rhizobium leguminosarum* controls a network of quorumsensing loci // *Mol. Microbiol.* 2000. V. 37. № 1. P. 81–97.
16. *Nelson M.S., Sadowsky M.J.* Communication between nitrogen-fixing rhizobia and legumes // *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6. P. 491.
17. *Oresnik I.J., Twelker S., Hynes M.F.* Cloning and characterization of a *Rhizobium leguminosarum* gene encoding a bacteriocin with similarities to RTX toxins // *Appl. Environ. Microbiol.* 1999. V. 65. № 7. P. 2833–2840.
18. *Parniske M., Ahlborn B., Werner D.* Isoflavonoid-inducible resistance to the phytoalexin glyceollin in soybean rhizobia // *J. Bacteriol.* 1991. V. 173. № 11. P. 3432–3439.

19. Rodelas B., Gonzalez-Lopez J., Salmeron V., Martinez-Toledo M.V., Pozo C. Symbiotic effectiveness and bacteriocin production by *Rhizobium leguminosarum* bv *viceae* isolated from agricultural soils in Spain // Appl. Soil Ecol. 1998. V. 8. № 1-3. P. 51–60.
20. Schripsema J., de Rudder K.E., van Vliet T.B., Lankhorst P.P., de Vroom E., Kijne J.W., van Brussel A.A. Bacteriocin small of *Rhizobium leguminosarium* belongs to the class of N-acyl-homoserine lactone molecules, known as autoinducers and as quorum sensing co-transcription factors // J. Bacteriol. 1996. V. 178. № 2. P. 366–371.
21. Schwinghamer E.A. Properties of some bacteriocins produced by *Rhizobium trifolii* // J. Gen Microbiol. 1975. V. 91. № 2. P. 403–413.
22. Travin D.Y., Jouan R., Vigouroux A., Inaba-Inoue S., Lachat J., Haq F., Timchenko T., Sutormin D., Dubiley S., Beis K., Moréra S., Severinov K., Mergaert P. Dual-uptake mode of the antibiotic phazolicin prevents resistance acquisition by gram-negative bacteria // mBio. 2023. V. 14. № 2. P. e00217–23.
23. Travin D.Y., Watson Z.L., Metelev M., Ward F.R., Osterman I.A., Khven I.M., Khabibullina N.F., Serebryakova M., Mergaert P., Polikanov Y.S., Cate J.H.D., Severinov K. Structure of ribosome-bound azole-modified peptide phazolicin rationalizes its species-specific mode of bacterial translation inhibition // Nat. Commun. 2019. V. 10. № 1. P. 4563.
24. Triplett E.W., Barta T.M. Trifolitoxin production and nodulation are necessary for the expression of superior nodulation competitiveness by *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* strain T24 on clover // Plant. Physiol. 1987. V. 85. № 2. P. 335–342.
25. Walker L., Lagunas B., Gifford M.L. Determinants of host range specificity in legume-rhizobia symbiosis // Front. Microbiol. 2020. V. 27. №. 11. P. 585749.
26. Weston L.A., Mathesius U. Flavonoids: their structure, biosynthesis and role in the rhizosphere, including allelopathy // J. Chem. Ecol. 2013. V. 39. 283–297.

ОТЗЫВ РУКОВОДИТЕЛЯ ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

Обучающийся Поздеев Данила Юрьевич группы Б-401

(фамилия, имя, отчество)

Выпускная квалификационная работа на тему:

Регуляция синтеза антибактериальных соединений у штаммов *Rhizobium leguminosarum*

Обучающийся Поздеев Данила Юрьевич успешно закончил(а) курс обучения по направлению подготовки 06.03.01 Биология. Итогом обучения явилось выполнение выпускной квалификационной работы, которая является исследовательской работой обучающегося.

При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования и анализа данных источников литературы, а также обобщения полученной информации. В процессе выполнения экспериментальной части были проведены самостоятельные исследования, освоены методы группировки, сравнения, логический, социологических исследований, экономико-математические и другие. Тема раскрыта полно, выводы отражают основные результаты исследования и могут быть использованы в практической деятельности.

В период выполнения выпускной квалификационной работы обучающийся показал(а) себя трудолюбивым, добросовестным исследователем, проявил(а) самостоятельность и творческую инициативу.

Работа отвечает требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам, аккуратно оформлена и может быть рекомендована к защите на присвоение квалификации бакалавра по направлению подготовки 06.03.01 Биология.

Научный руководитель:

д.б.н, профессор кафедры
фундаментальной
и прикладной микробиологии

Баймиев А.Х.



(подпись)

Подпись Баймиев А.Х.
Заверяю секретарь М.Б.А. Жигалов

ОТЗЫВ РЕЦЕНЗЕНТА О ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЕ

обучающегося Поздеев Данила Юрьевич группы Б-401

(фамилия, имя, отчество)

по теме: Регуляция синтеза антибактериальных соединений у штаммов *Rhizobium leguminosarum*

Целью данной работы являлось приобретение навыков по сбору и обработке биологической информации, умений обобщать результаты исследования в конкретные выводы и предложения, проявление творческого подхода к решению проблемы, подготовка к самостоятельной работе по специальности. Тема и содержание выпускной квалификационной работы соответствуют положениям федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.03.01 Биология. Работа заслуживает положительной оценки, так как решены все поставленные задачи.

При выполнении выпускной квалификационной работы были освоены методы группировки, логический, сравнения и др. Работа выполнена на должном научном уровне, тема раскрыта достаточно полно, сделаны выводы.

При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования литературных данных, их обобщения и анализа. Обзор литературы написан профессионально грамотно, так как автором учтены требования действующих нормативных и правовых актов, использованы материалы, опубликованные за последние пять лет.

Экспериментальная часть содержит результаты самостоятельных исследований по изучаемой теме, которая являлась базой производственной практики обучающихся. Для решения поставленных задач обучающимся была проявлена личная творческая инициатива в сборе информации, выполнены расчеты, произведен анализ результатов исследований и сделаны выводы. Выводы отражают основные результаты проведенных исследований.

Работа проиллюстрирована таблицами и рисунками, оформлена аккуратно, практически отсутствуют ошибки, материал изложен четко и грамотно.

Результаты проведенной работы имеют практическую значимость.

На основании вышеизложенного считаю, что работа может быть допущена к защите на присвоение квалификации бакалавр по направлению подготовки 06.03.01 Биология.

Рецензент:

к.б.н., доцент кафедры фундаментальной
и прикладной микробиологии
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России

дата



Борцова Ю. Л.

(Ф.И.О., подпись)

ОТЗЫВ РЕЦЕНЗЕНТА О ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЕ

обучающегося Поздеева Даниила Юрьевича
по теме: «Регуляция синтеза антибактериальных соединений у штаммов *Rhizobium leguminosarum*».

Целью данной работы являлось приобретение навыков по сбору и обработке биологической информации, умений обобщать результаты исследования в конкретные выводы и предложения, проявление творческого подхода к решению проблемы, подготовка к самостоятельной работе по специальности. Тема и содержание выпускной квалификационной работы соответствуют положениям федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура). Работа заслуживает положительной оценки, так как решены все поставленные задачи. При выполнении выпускной квалификационной работы были освоены методы группировки, сравнения и др. Работа выполнена на должном научном уровне, тема раскрыта достаточно полно, сделаны выводы. При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования литературных данных, их обобщения и анализа. Обзор литературы написан профессионально грамотно, так как автором учтены требования действующих нормативных и правовых актов, использованы материалы, опубликованные за последние пять лет. Экспериментальная часть содержит результаты самостоятельных исследований по изучаемой теме, которая являлась базой производственной практики обучающихся. Для решения поставленных задач обучающимся была проявлена личная творческая инициатива в сборе информации, выполнены расчеты, произведен анализ результатов исследований и сделаны выводы. Выводы отражают основные результаты проведенных исследований.

Работа проиллюстрирована таблицами и рисунками, оформлена аккуратно, практически отсутствуют ошибки, материал изложен четко и грамотно. Результаты проведенной работы имеют практическую значимость. На основании вышеизложенного считаю, что работа может быть допущена к защите на присвоение квалификации магистр по направлению подготовки 06.04.01. Биология.

Рецензент:

к.б.н., научный сотрудник лаборатории
биоинженерии растений и микроорганизмов
ИБГ УФИЦ РАН

Подпись <i>Лавина А.М.</i>	Лавина А.М.
Заверяю <i>Секретарь</i>	<i>А.А. Афанасьев</i>



(подпись)

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
"БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ"
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

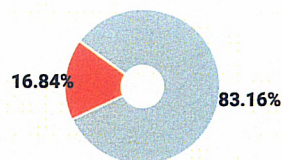
ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.ВУЗ

Автор работы: Поздеев Данила Юрьевич
Самоцитирование
рассчитано для: Поздеев Данила Юрьевич
Название работы: Регуляция синтеза антибактериальных соединений у штаммов *Rhizobium leguminosarum*
Тип работы: Выпускная квалификационная работа
Подразделение: кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

РЕЗУЛЬТАТЫ

СОВПАДЕНИЯ	16.84%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	83.16%
ЦИТИРОВАНИЯ	0%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 20.06.2025



Структура документа:
Модули поиска:

Проверенные разделы: основная часть с.4, 9-23, введение с.5-9, выводы с.24-25

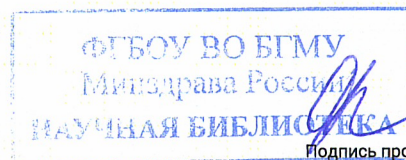
Цитирование; ИПС Адилет; Публикации eLIBRARY; Перефразирования по коллекции IEEE; СМИ России и СНГ; Шаблонные фразы; Переводные заимствования IEEE; Переводные заимствования; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; IEEE; Рувики; Патенты СССР, РФ, СНГ; Коллекция НБУ; Диссертации НББ; СПС ГАРАНТ: аналитика; Переводные заимствования по коллекции Гарант: аналитика; Публикации РГБ (переводы и перефразирования); Кольцо вузов (переводы и перефразирования); Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования); Публикации РГБ; Кольцо вузов; Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика; Медицина; Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте;...

Работу проверил: Понкротова Наталья Владимировна

ФИО проверяющего

Дата подписи:

20.06.2025



Подпись проверяющего



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

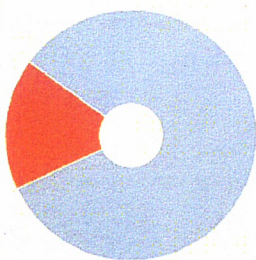
Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.



Отчет о проверке

Автор: Поздеев Данила Юрьевич**Название документа:** Регуляция синтеза антибактериальных соединений у штаммов *Rhizobium leguminosarum***Проверяющий:** Понкратова Наталья Владимировна**Организация:** ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ "БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ" МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ

**Совпадения:**
16,84%**Оригинальность:**
83,16%**Цитирования:**
0%**Самоцитирования:**
0%

❗ «Совпадения», «Цитирования», «Самоцитирования», «Оригинальность» являются отдельными показателями, отображаются в процентах и в сумме дают 100%, что соответствует проверенному тексту документа.

❗ Проверено: 75,21% текста документа, исключено из проверки: 24,79% текста документа. Разделы, отключенные пользователем: Титульный лист, Содержание, Библиография

- **Совпадения** — фрагменты проверяемого текста, полностью или частично сходные с найденными источниками, за исключением фрагментов, которые система отнесла к цитированию или самоцитированию. Показатель «Совпадения» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к совпадениям, в общем объеме текста.
- **Самоцитирования** — фрагменты проверяемого текста, совпадающие или почти совпадающие с фрагментом текста источника, автором или соавтором которого является автор проверяемого документа. Показатель «Самоцитирования» — это доля фрагментов текста, отнесенных к самоцитированию, в общем объеме текста.
- **Цитирования** — фрагменты проверяемого текста, которые не являются авторскими, но которые система отнесла к корректно оформленным. К цитированиям относятся также шаблонные фразы; библиография; фрагменты текста, найденные модулем поиска «СПС Гарант: нормативно-правовая документация». Показатель «Цитирования» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к цитированию, в общем объеме текста.
- **Текстовое пересечение** — фрагмент текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника.
- **Источник** — документ, проиндексированный в системе и содержащийся в модуле поиска, по которому проводится проверка.
- **Оригинальный текст** — фрагменты проверяемого текста, не обнаруженные ни в одном источнике и не отмеченные ни одним из модулей поиска. Показатель «Оригинальность» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к оригинальному тексту, в общем объеме текста.

Обращаем Ваше внимание, что система находит текстовые совпадения проверяемого документа с проиндексированными в системе источниками. При этом система является вспомогательным инструментом, определение корректности и правомерности совпадений или цитирований, а также авторства текстовых фрагментов проверяемого документа остается в компетенции проверяющего.

ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

Номер документа: 589**Тип документа:** Выпускная квалификационная работа**Дата проверки:** 20.06.2025 12:58:51**Дата корректировки:** Нет**Количество страниц:** 28**Символов в тексте:** 35989**Слов в тексте:** 4562**Число предложений:** 2456**Комментарий:** не указано



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

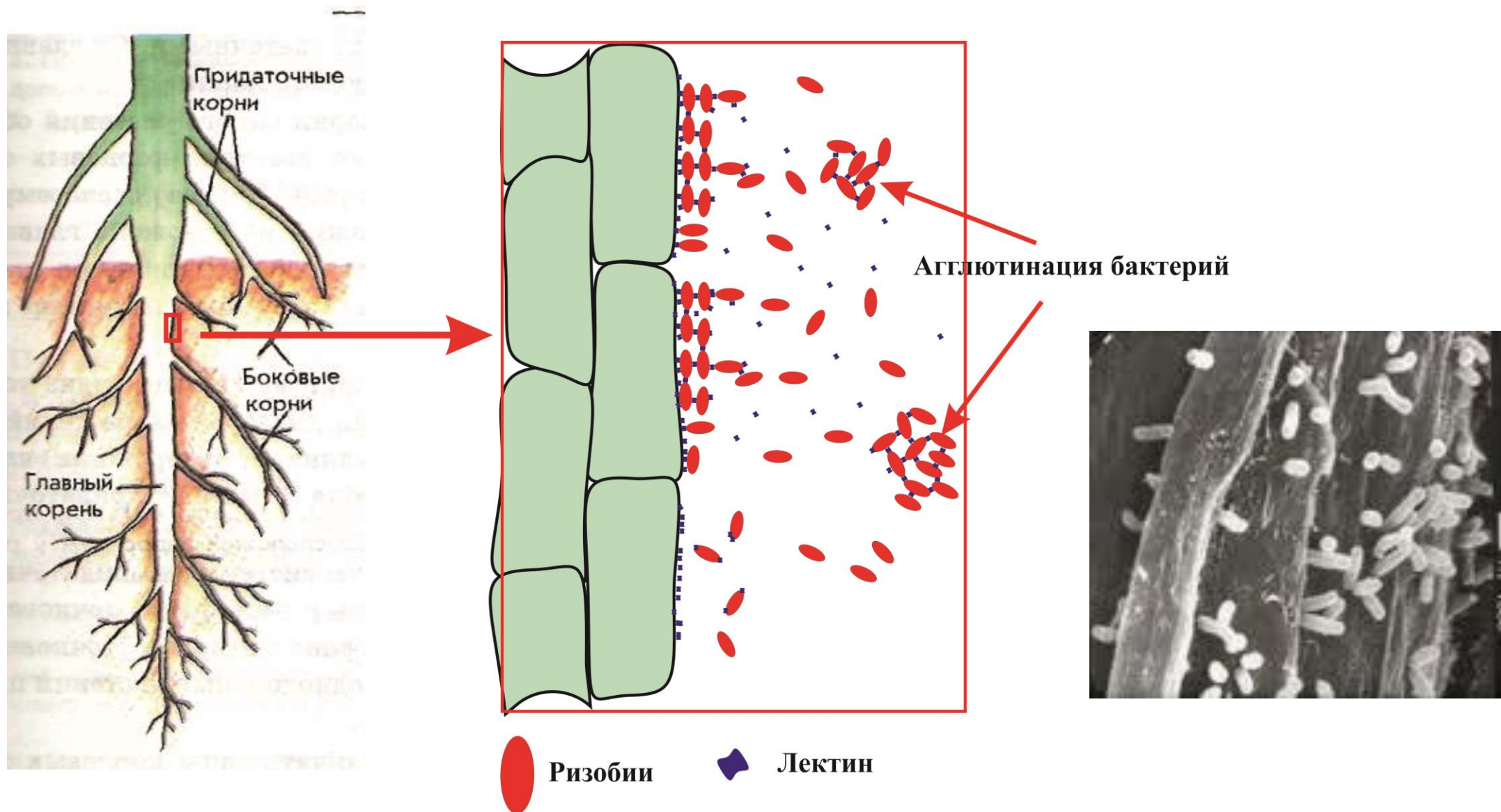
Институт развития образования
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

Поздеев Данила Юрьевич

**РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ У ШТАММОВ *RHIZOBIUM*
*LEGUMINOSARUM***

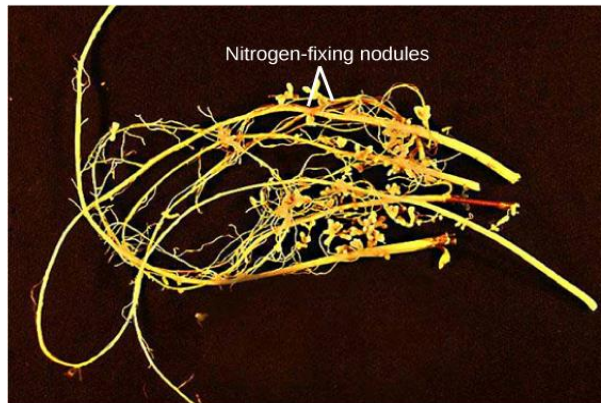
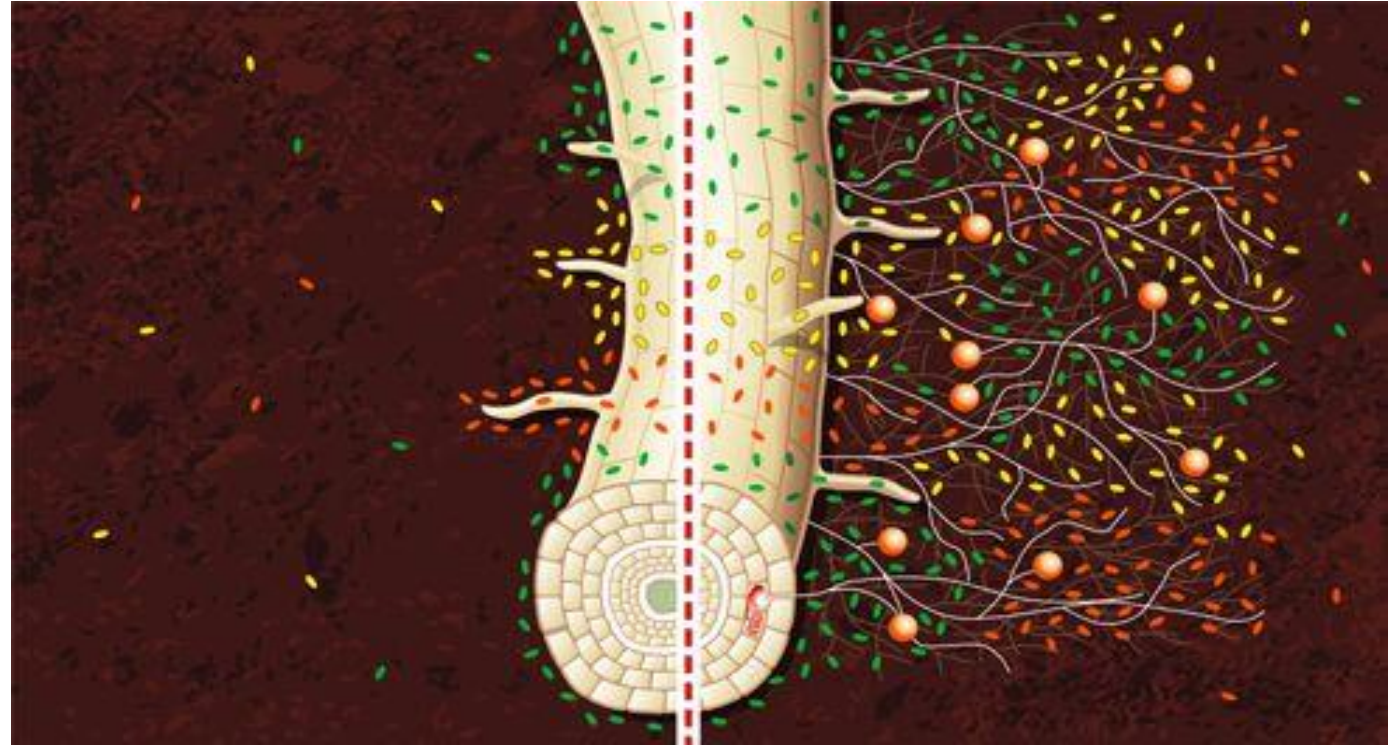
Научный руководитель:
д.б.н., доцент Баймиев Алексей Ханифович

Размножение бактерий в ризосфере и колонизация поверхности корня

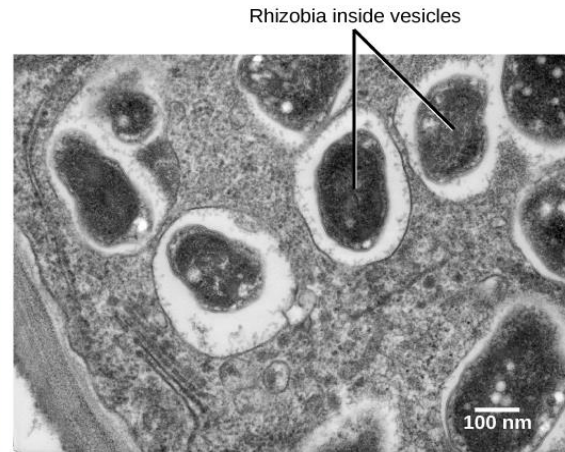


Актуальность исследования

Регуляция синтеза антибактериальных соединений (АС) у штаммов *Rhizobium leguminosarum* представляет собой важную область исследований ввиду регулирования продукции антибиотиков, которые влияют на структуру микробных сообществ в почве, что имеет значение для поддержания здоровья экосистем. Понимание этих процессов позволяет управлять взаимодействием микроорганизмов в агроэкосистемах.



(a)



(b)

Рис. 1) а - азотфиксирующие клубеньки в сое. б – *Rizobium* внутри клубенька.

Цель исследования

Целью данной работы являлось исследование условий активации способности к подавлению роста родственных бактерий у штаммов ризобий *Rhizobium leguminosarum* и *Neorhizobium galegae*, вступающих в симбиоз с дикорастущими бобовыми Южного Урала.

Задачи исследования

Для достижения цели исследования необходимо решить ряд конкретных задач:

- 1) Анализ влияния присутствия живых и инактивированных культур инородных бактерий на синтез АС ризобиями
- 2) Анализ влияния экссудатов и экстрактов корней растений на синтез АС ризобиями
- 3) Анализ влияния растительных флавоноидов на синтез АС ризобиями

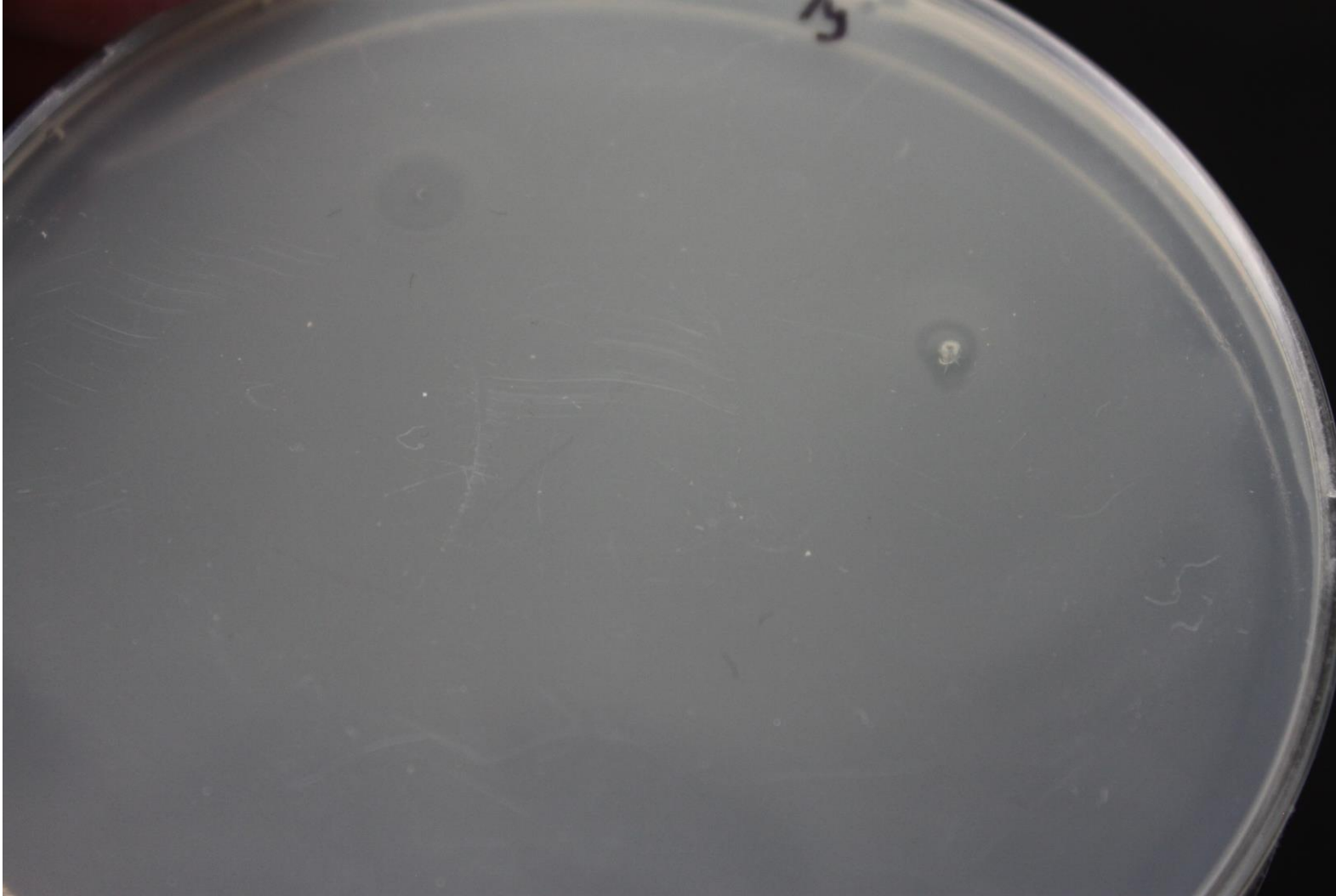
Объекты исследования

Объектом исследования в данной работе служил 51 штамм ризобий *Rhizobium leguminosarum* и *Neorhizobium galegae* обладающих антибактериальной активностью из коллекции симбиотических ризосферных микроорганизмов «Симбионт» ИБГ УФИЦ РАН.

Методы исследования

- 1) Приготовление питательных сред
- 2) Получение бактериального газона
- 3) Анализ влияния присутствия живых и инактивированных культур инородных бактерий на синтез АС ризобиями
- 4) Анализ влияния экссудатов и экстрактов корней растений на синтез АС ризобиями
- 5) Анализ влияния растительных флавоноидов на синтез АС ризобиями

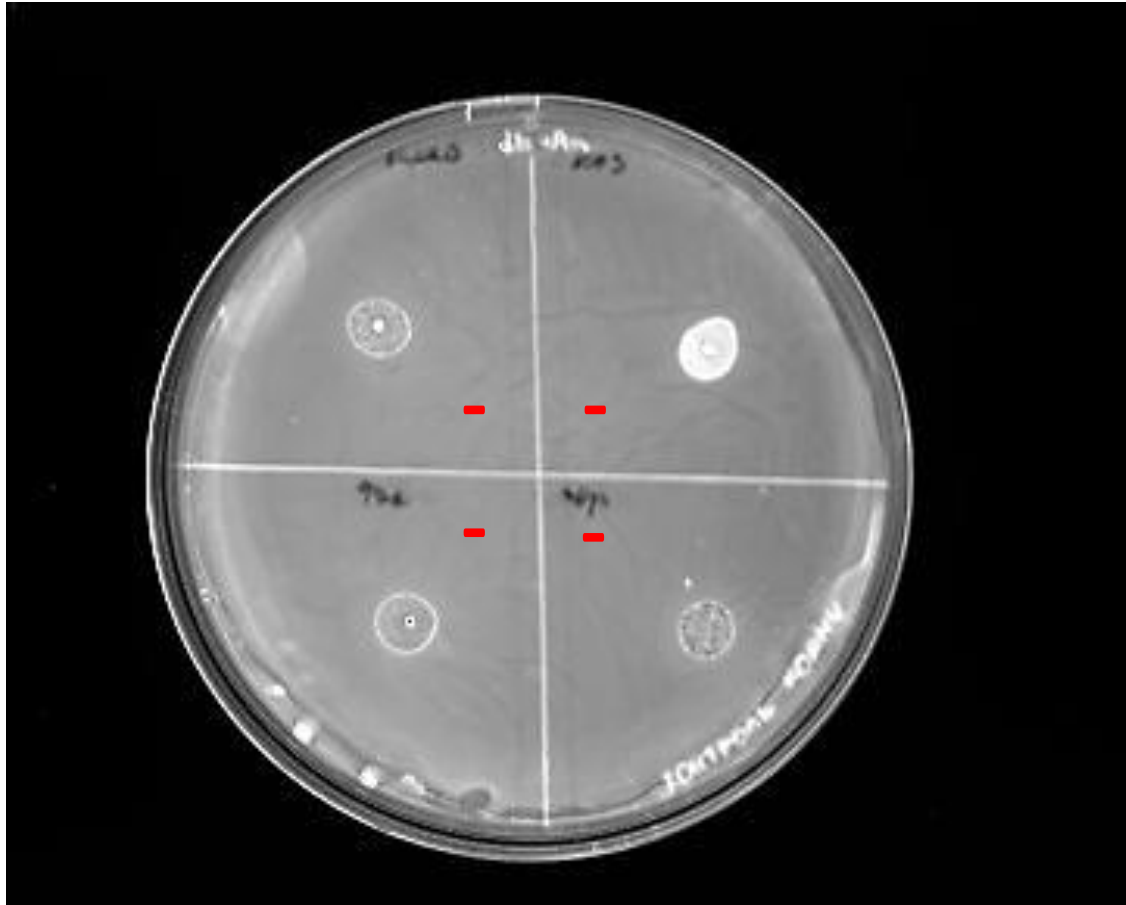
Анализ влияния присутствия живых и инактивированных культур инокродных бактерий на синтез АС ризобиями



Ореола подавления
не выявлено

Синтез АС не
зависит от
присутствия в
окружении
чужеродных
бактерий.

Анализ влияния экссудатов и экстрактов корней растений на синтез АС ризобиями



Вычленив влияние действия экстрактов на синтез АС ризобиями не удалось.

Отделить антибактериальное воздействие растительных метаболитов от бактериальных, производимых ризобиями, не получилось.

Корневые экссудаты содержат метаболиты, активирующие синтез АС ризобиями.

Анализ влияния растительных флавоноидов на синтез АС ризобиями

Таблица 1.

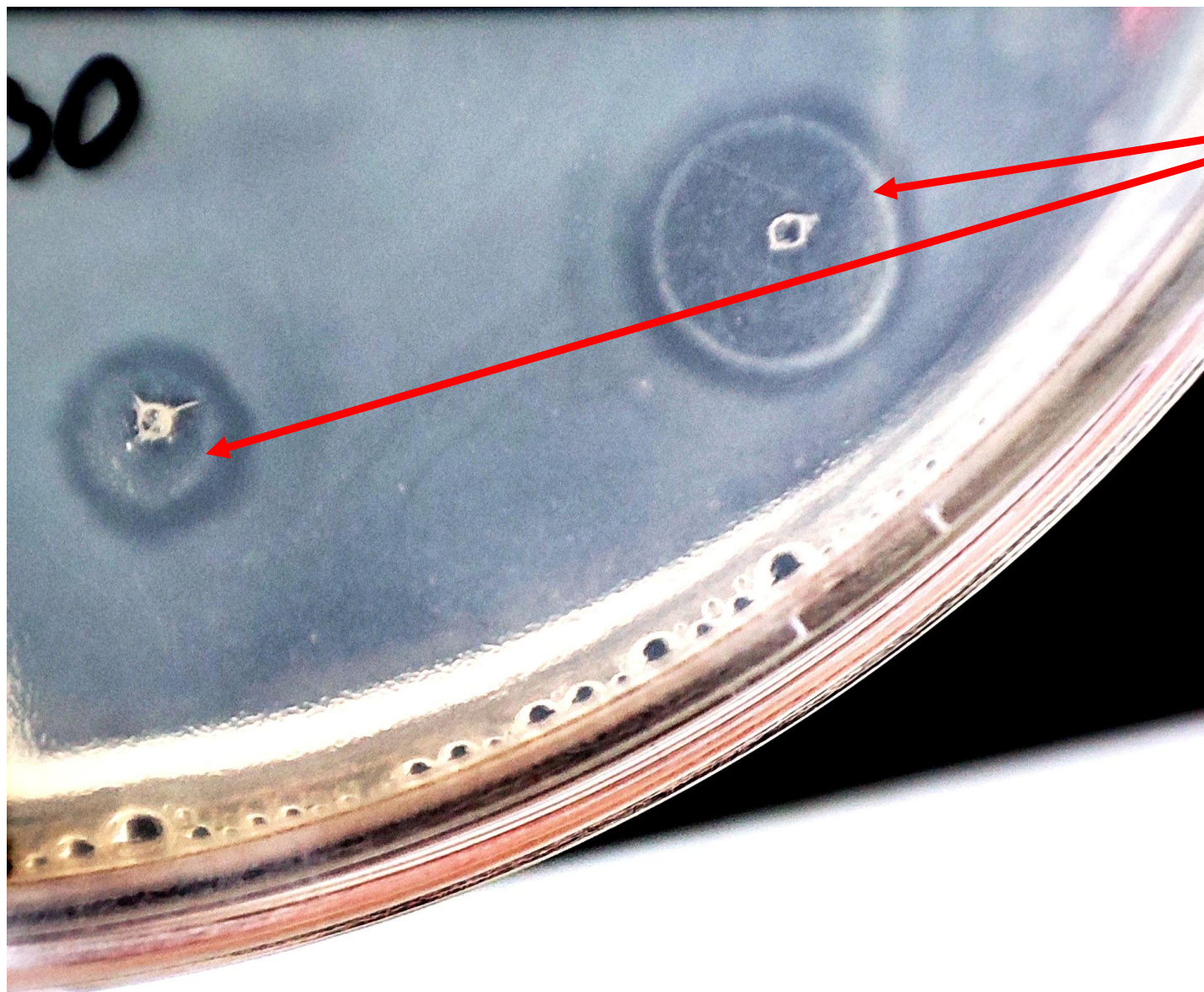
Активация подавления роста клеток газона бактерий метаболитами и живыми культурами ризобий, обработанных различными флавоноидами

Растение-хозяин (количество штаммов)	Апигенин				Генистеин				Кверцетин				Гесперидин				Нарингенин				Таксифолин			
	штамм бактерий газона																							
	VSyl9		PVu2		VSyl9		PVu2		VSyl9		PVu2		VSyl9		PVu2		VSyl9		PVu2		VSyl9		PVu2	
	○	●	○	●	○	●	○	●	○	●	○	●	○	●	○	●	○	●	○	●	○	●	○	●
Горошек лесной (1)	-	-	1	-	1	-	1	-	1	1	1	-	1	1	1	-	1	1	1	1	1	-	1	-
Горошек заборный (11)	4	4	5	4	4	5	6	5	5	4	6	4	6	7	6	7	8	7	6	6	7	6	5	5
Чина бледноватая (1)	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	1	1
Чина болотная (1)	1	1	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-	1	-	1	1	1	1	1	2	2	1	1
Чина лесная (3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	1	1	-	-	1	-
Чина клубненосная (2)	-	-	-	1	1	-	-	1	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Чина гороховидная (3)	-	-	3	1	-	-	3	-	2	-	3	-	1	-	2	2	-	-	1	1	2	1	2	2
Чина луговая (2)	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Чина весенняя (14)	3	3	8	4	1	-	4	2	5	4	5	2	7	8	7	6	7	5	7	6	4	3	5	2
Чина Гмелина (3)	-	-	2	2	1	-	1	2	1	1	2	3	-	-	2	1	1	1	1	1	-	-	1	2
Клевер гибридный (8)	4	5	4	6	3	5	1	1	2	2	1	1	8	8	1	2	8	8	2	3	6	4	2	3
Козлятник восточный (2)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1	-	-	1	1	-	1	2	1	1	1	1	-	1
Всего штаммов из 51	15	16	25	20	14	13	21	16	21	15	23	15	25	28	23	24	30	27	23	23	25	19	21	20
Общее число активированных штаммов на флавоноид	76				64				74				100				103				85			

Активация подавления роста клеток газона бактерий метаболитами и живыми культурами ризобий, обработанных различными флавоноидами

° - укол бактериями, S - культуральная жидкость.

Анализ влияния растительных флавоноидов на синтез АС ризобиями



Ореол подавления

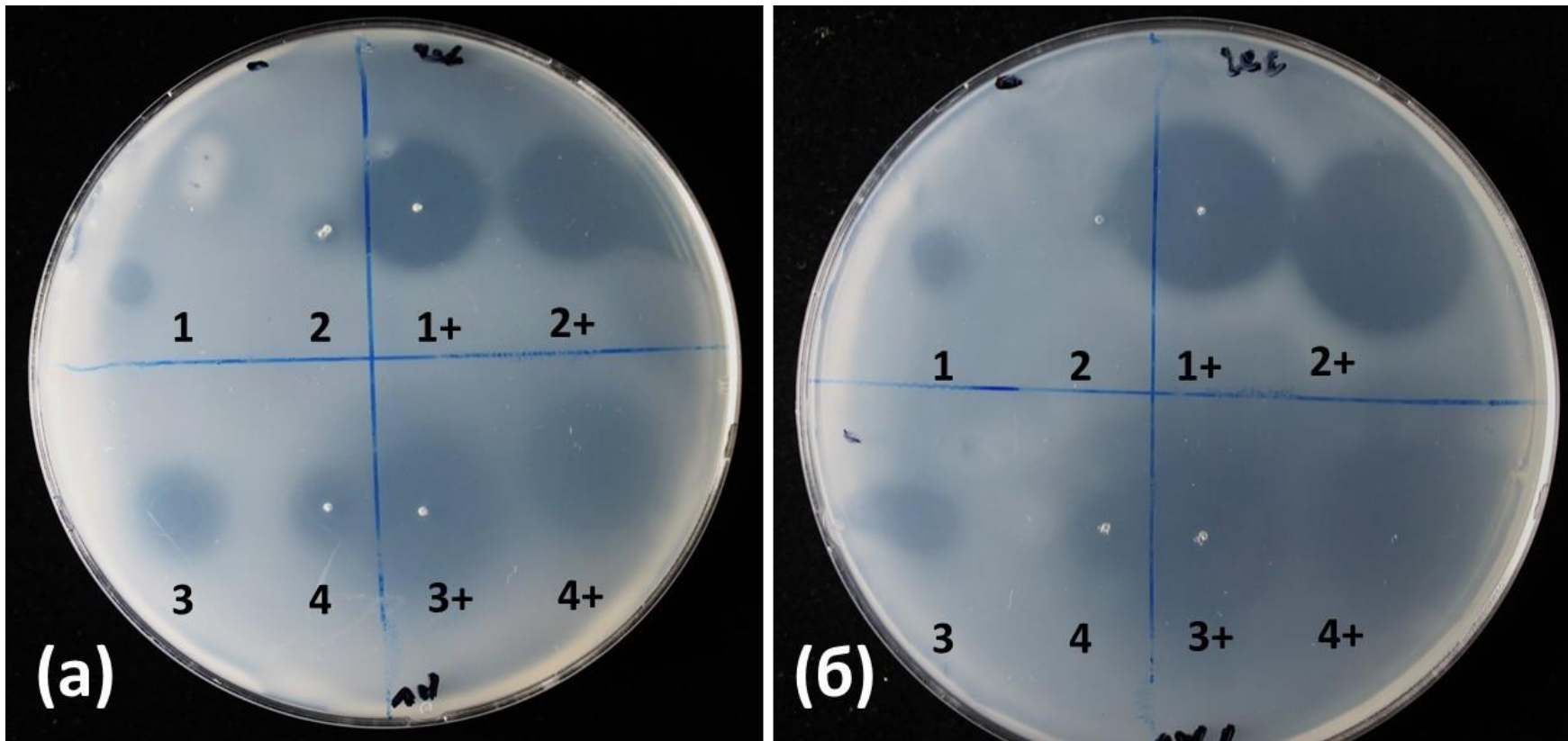


Рис. 1. Примеры подавления роста газона бактерий штамма *R. leguminosarum* bv. *viciae* VSy19, метаболитами 4 штаммов ризобий, изолированных из клубеньков чины весенней: 1, 2, 3, 4 – без добавления флавоноидов; 1+, 2+, 3+, 4+ – с добавлением флавоноидов; а – гесперидин; б – нарингенин.

Выводы

1. Анализ влияния присутствия в культуре живых и инактивированных инородных бактерий показал, что синтез АС у исследованных нами ризобий не зависит от присутствия в окружении чужеродных бактерий.
2. Добавление экстрактов и экссудатов корней подавляли рост бактерий газона и в опыте, и в контроле, хотя и в меньшей степени. Тем не менее, можно констатировать, что корневые экссудаты содержат метаболиты, активирующие синтез АС ризобиями.
3. Добавление растительных флавоноидов активирует синтез АС штаммами ризобий в культуре. Все использованные в работе флавоноиды в той или иной степени увеличивали выработку АС у части исследованных штаммов клубеньковых бактерий. Наибольший эффект был достигнут при использовании флавоноидов генистеина и нарингенина.

Благодарю за внимание!