

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра микробиологии и физиологии растений

ЭПИФИТНАЯ И ЭНДОФИТНАЯ МИКРОБИОТА
РАСТЕНИЙ БАКЛАЖАНА (*SOLANUM MELONGENA* L., 1753)
В УСЛОВИЯХ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 422 группы

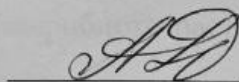
Направления подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Карпулянской Алёны Викторовны

Научный руководитель:

доцент, канд. биол. наук

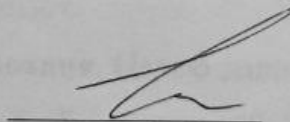


А. М. Петерсон

09.06.2025

Зав. кафедрой:

профессор, док. биол. наук



С. А. Степанов

09.06.2025

Саратов 2025

Введение

Актуальность темы. В обеспечении населения страны полноценными пищевыми продуктами важное значение имеют овощи, так как они представляют собой источники витаминов, минеральных солей, органических кислот и легкоусвояемых углеводов. Одной из популярных овощных культур являются баклажаны [1, 2]. На территории России баклажаны выращиваются преимущественно в южных регионах. Порядка 75% продукции поступают из хозяйств Краснодарского края, Волгоградской, Астраханской, Ростовской и Саратовской областей.

Однако значительная часть урожая ежегодно теряется в результате активного размножения на растениях фитопатогенов, прежде всего, фитопатогенных микромицетов [3].

Существуют химические и биологические методы защиты растений от грибковых заболеваний [4]. В качестве основы для биопрепаратов наиболее целесообразно использовать бактерий-антагонистов, изолированных с тех видов растений, которые в дальнейшем предполагается ими обрабатывать. Такие бактерии хорошо адаптированы к специфическим условиям обитания на тех или иных растениях и будут конкурентоспособны при дополнительном внесении в их микробиоту.

Однако, для разработки таких препаратов нужно иметь чёткое представление о нормальной микробиоте растений в том или ином регионе. Такие данные о растениях баклажана, культивируемых в условиях Саратовской области, в литературе отсутствуют.

Цель и задачи исследования. Целью данной работы стал комплексный анализ микробиоты растений баклажана (*Solanum melongena* L., 1753), выращиваемых в условиях Саратовской области.

Для реализации указанной цели были поставлены и решены следующие задачи:

1. Проанализировать особенности структуры микробиоты растений баклажана

2. Оценить степень влияния микробиоты почвы на видовой состав микробиоты растений баклажана
3. Провести сравнительный анализ микробных ассоциаций растений баклажана, выращенных в разных районах Саратовской области
4. Оценить сезонную динамику качественных и количественных характеристик микробиоты растений баклажана
5. Выявить особенности микробиоты плодов растений баклажана с различными патологиями
6. Определить уровень антагонистической активности выделенных бактериальных штаммов по отношению к фитопатогенным микромицетам и доказать безопасность отобранных штаммов бактерий-антагонистов для растений баклажана в условиях *in vitro*

Материал и методы исследования. Материалом для микробиологических исследований послужили листья растений баклажана, выращенных в УНПК "Агроцентр" Саратовского СГУГБиИ им. Н.И. Вавилова и фермерских хозяйствах Энгельсского района. Всего в ходе работы было исследовано 70 образцов здоровых листьев растений баклажана. В ходе работы было исследовано 70 образцов здоровых листьев и 20 поражённых плодов. Для определения влияния почвы на микробиоту растений баклажана в Правобережье исследовались и образцы грунта, взятые с места выращивания овощной культуры (3 пробы).

При микробиологических исследованиях листьев растений использовали метод отпечатка фрагмента листовой пластины (2x2 см) для выделения эпифитов, посев гомогенизата листьев для выделения эндофитов.

Дополнительно проводили культивирование мелких фрагментов листовых пластинок во влажной камере для более полного выявления микромицетов

При исследованиях плодов растений баклажана 0,1 г поражённых тканей засеивали на чашки с питательными средами.

Во всех экспериментах использовали среду PDA (картофель – 200 г, агар-агар – 15 г, глюкоза – 20 г, вода – 1 л).

Исследование образцов почвы проводили методом последовательных разведений (до 10^{-7}) и посева на среду ГРМ-агар (Оболensk, Россия)

Посевы культивировали при температуре +28 °C в течение 3-х суток для выделения бактерий и 5-7 суток для выявления грибов.

Для идентификации выделенных бактериальных культур был поставлен ряд биохимических тестов.

Все тесты проводили по общепринятым методикам. Идентификация бактерий проводилась по определителю бактерий «Bergey's manual of determinative bacteriology» (2006 г.) и сайту ABIS (BIOCHEMICAL IDENTIFICATION) [5, 6].

Идентификацию грибных изолятов проводили на основании анализа культуральных свойств, а также изучения морфологии мицелия гриба и органов спороношения на разных стадиях развития при помощи определителей [7, 8].

Определение действия бактерий-антагонистов по отношению к фитопатогенным микромицетам проводилось с помощью модифицированного метода перпендикулярных штрихов.

В эксперименте использовали листья здоровых растений баклажана сорта “Алмаз”. Для каждого штамма бактерий подготавливали по 2 фрагмента листьев (2x2 см): с цельной поверхностью и с надрезом на одной из жилок листа. Фрагменты листьев помещали в чашку Петри на подложку из голодного агара (агар-агар – 20 г, вода – 1000 мл). На фрагменты листовых пластинок петлей наносили суточную культуру 5 штаммов предполагаемых бактерий-антагонистов. Инокулированные части листьев инкубировали в чашках Петри в термостате при температуре +28 °C в течение 7 суток. Для оценки степени поражения была использована 3-х балльная шкала.

Индексы общности видового состава рассчитывали как отношение видов, общих для двух сравниваемых групп, к общему количеству выделенных из них видов, выраженное в процентах.

Встречаемость рассчитывали как число проб, в которых обнаружены микроорганизмы данного вида к общему числу проб, выраженное в процентах.

Для определения нормальности распределения данных использовали тест Шапиро-Уилка, для попарного сравнения групп – тест Уилкоксона. При значении $p < 0,05$ группы имели статистически значимые различия [9].

Статистическая обработка результатов проводилась в программе STATISTICA 10.

Структура и объем работы. Работа изложена на 59 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы и список использованных источников. Работа проиллюстрирована 16 таблицами и 12 рисунками. Список использованных источников включает в себя 46 наименований.

Основное содержание работы

В главе «Обзор литературы» представлена информация о растениях баклажана как среде обитания микроорганизмов, о сапрофитической эпифитной и эндофитной микробиоте растений баклажана, о фитопатогенных микроорганизмах, поражающих растения баклажана в процессе вегетации, об основных возбудителях порчи баклажанов при хранении, о способах борьбы с болезнями баклажанов.

В главе «Результаты исследования» представлены таксономическая характеристика выделенных бактерий и грибов, особенности структуры микробиоты растений баклажана, влияние микробиоты почвы на видовой состав микробиоты растений баклажана, сравнительный анализ микробных ассоциаций растений баклажана, выращенных в разных районах Саратовской области, сезонная динамика качественных и количественных характеристик микробиоты растений баклажана, особенности микробиоты плодов растений баклажана с различными патологиями, антагонистическая активность

бактерий, изолированных со здоровых листьев растений баклажана, по отношению к фитопатогенным микромицетам.

В ходе исследования было выделено 45 штаммов бактерий и 33 штамма грибов, которые в результате идентификации были отнесены к 15 видам бактерий (*Bacillus cereus*, *B. halodurans*, *B. pseudomicoides*, *B. drentensis*, *B. psychrodurans*, *B. simplex*, *B. amyloliquefaciens*, *B. oleronius*, *B. bataviensis*, *B. coagulans*, *B. circulans*, *B. lentus*, *Aneurinibacillus aneuriniliticus*, *Jonesia denitrificans*, *Raoultella terrigena*) и 9 видам грибов (*Alternaria solani*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. ustus*, *Fusarium oxysporum*, *Mucor ramosissimus*, *Penicillium janthinellum*, *Rhizopus stolonifer*, *Trichoderma harzianum*).

Анализ таксономической характеристики выделенных бактериальных видов выявил преобладание семейства Bacillaceae класса Bacilli.

Анализ таксономической характеристики выделенных грибных видов выявил преобладание семейства Aspergillaceae класса Eurotiomycetes. Другим часто встречающимся классом являлся Mucoromycetes.

В ходе исследования выяснилось, что соотношение количества видов бактерий и грибов как на поверхности, так и во внутренних тканях листьев баклажана практически одинаковое.

В эпифитной и эндофитной бактериальной микробиоте растений баклажана встречаются как грамположительные, так и грамотрицательные виды бактерий. Выделенные грамположительные микроорганизмы относились к семействам Bacillaceae и Listeriaceae, а грамотрицательные бактерии являлись представителями Enterobacteriaceae.

В микокомплексе эпифитной микробиоты растений баклажана встречаются представители 5 различных семейств, но преобладали виды, относящиеся к семейству Aspergillaceae. В эндофитной микробиоте встречаются представители 6 семейств при этом так же преобладают представители семейства Aspergillaceae.

Был проведен анализ встречаемости видов бактерий на поверхности и во внутренних тканях растений баклажана в Саратовской области.

Наиболее часто встречающимся видом среди эпифитной микробиоты был *B. pseudomycoides*, выделенный более чем из 80% проб. Количественное содержание бактериальных микроорганизмов варьировало от 10 до 10^3 КОЕ/см². Количественное содержание бактериальных клеток так же варьировало от 10 до 10^3 КОЕ/г. Наиболее высоких количественных показателей (10^3 КОЕ/г) здесь достигали *B. circulans* и *B. pseudomicroides*.

B. psychrodurans и *J. denitrificans* выделялись только с поверхности растения, а *B. amyloliquefaciens*, *B. bataviensis* и *B. pseudomicroides* только из внутренних тканей растений баклажана.

Так же был рассчитан индекс общности видового состава для бактериальных микробиот поверхности и внутренних тканей растения баклажана, который составил 60 %.

Были проанализированы количественные показатели содержания представителей каждого вида во всех исследованных пробах.

Расчет критерия Уилкоксона доказал, что на поверхности растений баклажана достоверно более высокие количественные показатели имели *B. pseudomycoides*, *B. halodurans*, *B. lentus* и *B. simplex*.

Анализ численности эндофитных бактерий показал, что *B. pseudomycoides*, *B. simplex*, *B. amyloliquefaciens*, *B. halodurans*, *B. lentus* имели статистически значимые более высокие показатели содержания во внутренней среде растений.

Самым часто встречающимся эпифитным видом микромицетов являлся *R. stolonifer*, который изолировался более чем из 48 % исследованных образцов. Во внутренних тканях растений баклажана чаще всего встречались *A. niger*, *R. stolonifer* и *M. ramosissimus*. Количественные показатели грибов во внутренних тканях растений варьировали в пределах 10^2 - 10^3 КОЕ/г. Индекс общности эпифитной и эндофитной микробиоты микромицетов составил 55,6 %.

На поверхности растений баклажана имели более высокие статистически значимые количественные показатели такие виды как *A. solani* и *R. stolonifer*.

Грибы *A. ustus*, *P. Janthinellum*, *T. harzianum*, *F. oxysporum*, *M. ramosissimus*, имели более высокие количественные показатели только по сравнению с самыми малочисленными видами.

Анализ количественных показателей микромицетов во внутренних тканях растений баклажана доказал, что показатели *A. niger*, *R. stolonifer* и *M. ramosissimus* статистически выше показателей других видов.

Самыми распространенными бактериями почвы являлись *B. amyloliquefaciens* и *B. pseudomycoides*, такой же высокий индекс встречаемости на поверхности и во внутренних тканях растений наблюдался только у *B. pseudomicroides*. *B. amyloliquefaciens* встречается только во внутренних тканях растений. Остальные бактериальные микроорганизмы встречались как в микробиоте почвы, так и в микробиоте растений баклажана примерно в равных количествах.

При расчете индекса общности видового состава была отмечена абсолютная схожесть микробиоты почвы и внутренних тканей растений баклажана.

Был проведен анализ встречаемости микроорганизмов в зависимости от районов возделывания культуры баклажана. Самым распространенным бактериальным видом являлся *B. pseudomycoides*, встречающийся во всех исследованных районах Саратовской области.

Самым распространенным микромицетом являлся *R. stolonifer*, который выделялся из всех исследованных районов, где являлся преобладающим. Самыми редкими представителями грибной микробиоты являлись *A. flavus* и *A. ustus*, их частота встречаемости составляла 6 и 10 % соответственно.

В ходе работы был рассчитан индекс общности видового состава для правобережья и левобережья Саратовской области. Для бактериальной микробиоты он составил 40 %, для грибной микробиоты он оказался выше, и составил 66,7 %.

В летний период наблюдалось преобладание микромицетов над бактериями. Среди грибов самыми распространенными ассоциатами растений

баклажана являлись *A. niger* и *R. stolonifer* (индекс встречаемости более 80 %). *P. janthinellum* не встречался в пробах в летний период.

Среди бактериальных штаммов, выделенных в летний период самым распространенным являлся *B. pseudomycoides*, который встречался во всех исследованных пробах. Такие виды как: *B. circulans*, *B. coagulans*, *B. lentus*, *B. simplex* и *R. terrigana* в начале вегетационного сезона выделены не были.

В осенний период было отмечено уменьшение как грибных, так и бактериальных изолятов. *B. simplex*, *B. coagulans*, *B. lentus* стали преобладающими в пробах осеннего периода.

В конце вегетационного сезона количество видов микромицетов и их встречаемость сократилась. Доминантом по-прежнему являлся *R. stolonifer* (индекс встречаемости 53 %). *A. flavus*, *A. niger* и *A. ustus* в конце вегетационного сезона выделены не были.

Индекс общности видового состава бактериальной микробиоты в летний и осенний период составил 6,7 %, что говорит о влиянии погодных условий на видовой состав бактериальной микробиоты растений баклажана.

Для грибной микробиоты был так же рассчитан индекс общности видового состава, который составил 55,6 %, что значительно выше, чем для бактериальной составляющей микробиоты.

В течение всего сезона на растениях присутствовали лишь бактерия *B. halodurans* и грибы *A. solani*, *F. oxysporum*, *R. stolonifer* и *M. ramosissimus*. К осени встречаемость почти всех этих видов уменьшилась.

Статистический анализ (коэффициент Уилкоксона) изменения их численности на поверхности растений (КОЕ/см²) показал, что к концу вегетационного сезона этот показатель увеличивался у *B. halodurans* ($p=0,0009$) и уменьшался у микромицетов *A. solani* ($p=0,0050$), *F. oxysporum* ($p=0,0070$), *M. ramosissimus* ($p=0,0430$).

В ходе исследования плоды были разделены на три группы, в зависимости от характера поражения.

Первая группа включала в себя плоды с сухими зонами некроза с серым налетом. Во вторую группу входили плоды с сухими зонами некроза с зелёным налётом. В третью группу входили плоды баклажанов с мокрыми гнилями.

Анализ микробиоты проводился в зависимости от того, к какой из трёх групп относился поражённый плод.

Наиболее часто выделяли микромицеты двух видов: *F. oxysporum* и *Alternaria solani* (индекс встречаемости более 60 %), по количественному содержанию эти виды также оказались доминирующими (10^3 КОЕ/г). Оба этих микромицета встречались только в поражениях с сухими зонами некроза, из плодов с мокрой гнилью данные грибы не выделялись.

Самым распространенным бактериальным видом являлся *Bacillus licheniformis* (индекс встречаемости 40 %).

Индекс общности видового состава показал, что микробиота плодов с сухими зонами некроза имела схожесть между собой. В микробиотах плодов баклажанов с сухими зонами некроза и мокрыми гнилями общих видов выделено не было.

Наибольший антагонистический эффект показали *B. amyloliquefaciens*, *B. halodurans*, *B. drentensis*. Такой результат может быть связан со способностью данных видов продуцировать различные биологически активные вещества. Наименее эффективными оказались *B. pseudomycoides* и *B. psychrodurans*. Среди исследованных фитопатогенов наиболее эффективно были подавлены *A. solani* и *F. oxysporum*.

Для того чтобы использовать бактерий-антагонистов для защиты растений баклажана от порчи, нужно проверить их безопасность для данного растения и убедиться, что они не являются фитопатогенными. Для этого было проведено исследование их влияния на здоровые листья растений баклажана.

Эксперимент показал, что безопасными для растений являются *B. psychrodurans* и *B. amyloliquefaciens*.

Остальные виды вызывали поражения листьев в разной степени.

Таким образом, в результате исследования выяснилось, что самым эффективным и безопасным для самого растения антагонистом оказался *B. amyloliquefaciens* 12, который можно рекомендовать для дальнейшего применения в борьбе с фитопатогенными микромицетами.

Выводы

1. Микробиота растений баклажана включала 12 видов бактерий родов *Bacillus*, *Aneurinibacillus*, *Listeria* и *Raoultella* и 9 видов грибов родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Mucor*.

2. Среди эпифитных микроорганизмов наиболее высокую встречаемость имели бактерии *B. pseudomycooides* (84 %) и грибы *R. stolonifer* (48 %), среди эндофитов явных доминантов выделено не было.

3. Индекс общности видового состава культивируемой микробиоты почвы и эпифитной микробиоты растений баклажана составил 80 %, почвы и эндофитной микробиоты растений – 100 %.

4. Во всех исследованных районах Саратовской области в микробиоте растений баклажана доминировали бактерии *B. pseudomycooides* и грибы *R. stolonifer*.

5. Выявлена существенная вариабельность видового состава микробиоты растений баклажана в течение вегетационного сезона: индекс общности видов бактерий, изолированных с исследуемых растений в начале и конце вегетации составил 6,7 %, у грибов этот показатель был существенно выше – 55,6 %.

6. На плодах баклажана с сухими зонами некроза доминировали фитопатогенные грибы *F. oxysporum* (встречаемость 45 %) и *A. solani* (62,5 %), с мокрыми гнилями – бактерии *B. licheniformis* (40 %).

7. Виды, входящие в состав микробиоты растений баклажана, обладают антагонистической активностью по отношению к фитопатогенам, поражающим данную культуру. Самым эффективным (подавление роста всех

исследованных грибов на 33,3 – 83,3 %) и безопасным для самого растения антагонистом оказался *B. amyloliquefaciens* 12, который можно рекомендовать для дальнейшего применения в борьбе с фитопатогенными микромицетами.

Список использованных источников

- 1 Кигашпаева, О. П. Селекция баклажана для аридной зоны Нижнего Поволжья: автореф. дис.....канд. с.-х. наук / О. П. Кигашпаева. – Астрахань, 2007. – С. 3 – 6.
- 2 Волкова, Н. А. Экономика сельского хозяйства и перерабатывающих предприятий / Н. А. Волкова, О. А. Столярова, Е. М. Костерин // М.: КолосС, 2005. – С. 18 – 25.
- 3 Мишина, М. Н. Собственные защитные реакции растений на поражение фитопатогенами / М. Н. Мишина // Наука и образование. – 2020. – Т. 3, № 3 – С. 23 – 26.
- 4 Биология и технология выращивания баклажана в интенсивном овощеводстве / [Электронный ресурс] // Научный журнал КубГАУ : [сайт]. – URL: <https://kubsau.ru/upload/iblock/6d8/6d8e344036737299a33b664a6949c61e.pdf> (дата обращения: 13.02.2024). Загл. с экрана. – Яз. Рус.
- 5 Определитель бактерий Берджи; В 2 томах. / Дж. Хоулт, [и др.]. – М.: Мир. – 1997. – 800 с.
- 6 Sorescu, I. Online Advanced Bacterial Identification Software, an Original Tool for Phenotypic Bacterial Identification. / I. Sorescu, C. Stoica // Rom Biotechnol Lett. – 2021. – Vol. 26, №. 6. – P. 3047 – 3053.
- 7 Саттон, Д. Определитель патогенных и условно патогенных грибов / Д. Саттон, А. Фотергилл, М. Ринальди. – М.: Мир, 2001. – 486 с.
- 8 Благовещенская, Е. Ю. Фитопатогенные микромицеты. Учебный определитель / Е. Ю. Благовещенская. – М.: ЛЕНАНД, 2015. – 240 с.
- 9 Мاستицкий, С. Э. Методическое пособие по использованию программы STATISTICA при обработке данных биологических исследований. – Мн.: РУП «Институт рыбного хозяйства», 2009. – 76 с.

