

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

Кафедра микробиологии и физиологии растений

СОЗДАНИЕ УЧЕБНОГО АТЛАСА-ОПРЕДЕЛИТЕЛЯ
МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ С
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР СЕМЕЙСТВА ПАСЛЁНОВЫЕ
(SOLANACEAE JUSS., NOM CONS., 1789) НА ТЕРРИТОРИИ
САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 4 курса 422 группы

Направления подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Новака Ивана Александровича

Научный руководитель:

доцент, канд. биол. наук



А. М. Петерсон

13.06.2015

Зав. кафедрой:

профессор, доктор биол. наук



С. А. Степанов

13.06.2015

Саратов 2025

Введение

Актуальность темы. В мире сельскохозяйственные культуры занимают миллиарды гектаров полей [1]. Существенную часть этих территорий занимают посадки растений, принадлежащих к семейству паслёновые (*Solanaceae* JUSS., nom. cons., 1789): картофель (*Solanum tuberosum* L., 1753), томаты (*Solanum lycopersicon* Toum. 1753.), баклажаны (*Solarium melongena* L., 1760), перцы (*Capsicum annuum* L., 1753). Эти культуры широко выращиваются и на территории России. Так объём посадки картофеля в России составляет более 1,1 млн. га [2], баклажанов – 4,5 тыс. га [3], томатов – 78,9 тыс. га [4]. В Саратовской области площадь засева картофелем составляет 7.5 тыс. га, баклажаны и томаты занимают не более 200 га [5].

В связи с широким культивированием данных растений, актуален вопрос их защиты от различных фитопатогенных организмов. Средний показатель потерь лежит в пределах 10-20% полученного урожая, в отдельных случаях потери могут достигать 80%. При этом наибольший вред растениям наносят различные фитопатогенные грибы. Для успешной борьбы с ними нужно правильно идентифицировать возбудителя, т.к. зачастую схожие поражения могут вызывать разные фитопатогены или же их сочетания. Однако в настоящий момент существует явная проблема с наличием определителей фитопатогенных грибов, поражающих сельскохозяйственные растения семейства паслёновые. Имеющиеся определители содержат устаревшую информацию и давно не дополнялись. Кроме того, они не имеют чёткой направленности по объектам поражения, что усложняет задачу установления таксономической принадлежности гриба хотя бы до рода. Всё это делает актуальным разработку атласа-определителя фитопатогенных грибов, поражающих растения семейства паслёновые. Таким атласом могли бы пользоваться как студенты учебных заведений биологической и сельскохозяйственной направленности, так и специалисты-практики, работающие в области защиты растений и не имеющие возможности проводить генетические исследования выявленных возбудителей.

Цель и задачи исследования. Целью данной работы стал анализ микокомплексов сельскохозяйственных растений семейства паслёновые в условиях Саратовской области и создание атласа-определителя для идентификации входящих в их состав микромицетов по фенотипическим свойствам.

Для реализации данной цели были поставлены задачи:

1. Проанализировать результаты микологических исследований томата, картофеля, перца, и баклажана на территории Саратовской области за последние 5 лет.
2. Провести идентификацию всех изолированных штаммов микромицетов, полученных с сельскохозяйственных культур семейства пасленовые.
3. Провести анализ распространения микромицетов на этой группе растений.
4. Сделать фотографии колоний на среде PDA всех изолированных видов на различных этапах роста, а также микрофотографии органов спороношения.
5. Создать ключ для определения микромицетов со ссылками на сформированный атлас.

Материал и методы исследования. Работа проводилась на базе кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета в период с 22.06.2024 по 13.10.2024.

Материалом для исследований послужили 219 штаммов микромицетов, изолированные с растений картофеля, томата, перца и баклажана на территории Саратовской области. Часть штаммов была взята из коллекции кафедры микробиологии и физиологии растений СГУ, часть получена в ходе собственных полевых исследований.

При самостоятельном выделении микромицетов использовали культивирование во влажной камере. Далее выделенные микромицеты рассеивали на среде PDA для получения чистых культур. Пред началом

идентификации было необходимо получить чистые культуры грибов. Для этого производился посев смешанной культуры на отдельную чашку Петри с питательной средой PDA. После культивирования в течении 3 дней

Фенотипическая идентификация проводилась на основе различий микромицетов по строению спорангиев, спор, а также мицелия. Внимание уделялось форме, размеру, цвету, текстуре, наличию особых структур

При работе использовали определители [6,7], источники из периодической печати [8], электронные ресурсы [9]

Для получения фотографий колоний грибов производился посев мицелия исследуемого вида в центр чашки с питательной средой PDA. Посев осуществлялся в виде окружности диаметром не более 1 см при помощи петли. Также применялся перенос питательной среды с мицелием исследуемого гриба диаметром 1 см при помощи микробиологического сверла. Фотографирование производилось с момента начала прорастания до момента достижения грибом диаметра 6-7 см.

Для получения микрофотографий органов спороношения производилось изготовление препарата методом отпечатка мицелия на скотче с предварительным помещением взятого образца в небольшое количество спирта, а также последующее механическое удаление попавшего воздуха, путем его вытеснения за счет движения второго предметного стекла под углом 45°.

Для визуализации особенностей органов спороношения применялся фазово-контрастный метод с использованием микроскопа Zeiss с увеличением в 720 раз. Также использовалась иммерсионная микроскопия (Микромед, увеличение в 960 раз).

Структура и объем работы. Работа, включая приложение, изложена на 71 странице и содержит 3 главы, заключение, выводы и список использованных источников. Работа проиллюстрирована 24 таблицами и 16 рисунками. Список использованных источников включает в себя 55 наименований.

Основное содержание работы

В ходе проведённого анализа было установлено, что с исследуемой группы растений выделялись представители двух отделов: Zygomycota и Ascomycota. Отдел Zygomycota был представлен единственным классом Mucoromycetes.

Отдел Ascomycota – тремя классами и пятью семействами. Следовательно, большая часть полученных изолятов относилась к Ascomycot.

С каждого вида растений изолировалось от 7 до 10 родов микромицетов. Наибольшее видовое разнообразие на картофеле было характерно для родов *Aspergillus* и *Penicillium*, на томате – для *Trichoderma*, *Alternaria* и *Fusarium*, на баклажанах – для *Aspergillus*, на перцах – для *Aspergillus*, *Alternaria* и *Fusarium*.

В наших исследованиях наиболее часто и в большом количестве при данном типе поражения выделялись грибы родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicilium* и *Rhizopus*.

Выявлена наибольшая встречаемость микромицетов рода *Alternaria* на баклажанах и перцах. При этом с растений картофеля выделялся только вид *A. helianthin*, а с баклажан - *A. solani*. Во внутренних тканях растений грибы рода *Alternaria* выделялись только у баклажанов и перцев. Преобладающими видами оказались *A. alternata* и *A. solani*.

Грибы рода *Aspergillus* изолировались со всех растений, но на томатах встречались реже. Причём у баклажанов и перцев грибы этого рода присутствовали как на поверхности, так и во внутренних тканях. Самыми распространёнными видами оказались *A. flavus* и *A. niger*.

Fusarium часто изолировался с поверхности всех растений. Преобладающими видами оказались *F. oxysporum* и *F. solani*. При этом *F. moniliforme* выделялся только с перца, а *F. solani* со всех исследуемых растений, кроме картофеля. Из внутренних тканей микромицеты данного рода наиболее часто изолировались с томата и перца, реже с баклажана. Среди

эндофитной микробиоты картофеля представители *Fusarium* изолированы не были.

Penicillium встречался в незначительном количестве. С растений перца были выделены редко встречаемые виды *P. citrinum* и *P. purpurogenum*. Со всех растений, кроме баклажана, *P. chrysogenum* изолировались, как с поверхности, так и внутренних тканей растений. Причем во внутренних тканях *P. janthinellum* встречался только у растений баклажана. Самым распространённым видом оказался *P. chrysogenum*.

Среди представителей других родов следует отметить высокую встречаемость на поверхности всех растениях *R. stolonifer*, на картофеле – *M. ramosissimus*, на томатах – *A. jiangsuensis* и *T. koningii*. Во внутренних тканях *R. stolonifer* часто изолировался у баклажанов и перцев, *M. ramosissimus* - у баклажанов.

Среди выделенных грибов были как сапрофитические виды, так и фитопатогенные, которые способны вызывать различные патологии у растений семейства паслёновые.

Основной патологией, вызываемой, представителями рода *Alternaria*, является черная гниль. Микромицеты относящиеся к *Aspergillus* вызывают различные виды гнили. Представители рода *Fusarium* вызывают корневую гниль и трахеомикозное увядание. Все вышеперечисленные рода способны вызывать поражение всех исследуемых видов растений.

Индекс общности между видами картофель, баклажаном и томат составил 16%, а картофелем и перцем 28%. Микробиота томата и баклажана схожа на 12%, а с перцем на 20%. Индекс общности баклажана и перца составил 28%.

Как показывают ранее проведенные исследования, одинаковые патологии могут вызывать разные виды грибов или же их сочетание. Поэтому крайне важно идентифицировать возбудителя в каждом конкретном случае. Однако ни один из имеющихся определителей не охватывает все виды, которые изолируются с растений этой группы, что и обусловило

необходимость создания собственного определителя, который опирался бы на доступные для изучения фенотипические свойства изолятов.

На первом этапе необходимо провести родовую идентификацию выделенного микромицета. Для этого в первую очередь учитывается характер роста гриба на питательной среде. Естественно, он зависит от состава среды, поэтому для всех своих исследований мы использовали одну среду – PDA как наиболее широко применяемую при фитопатологических исследованиях. Все выделенные грибы по характеру пигментации колоний на PDA были распределены на 5 групп, что позволяет с самого начала сузить круг поиска до нескольких родов.

Вторым информативным показателем для идентификации микромицетов является морфология органов спороношения. Среди видов, изолированных за время работы, встречались различные варианты.

Таким образом, анализ культуральных и морфологических свойств позволяет выйти на определённый род микромицетов.

Более сложной является внутривидовая идентификация микромицетов. Проведённый анализ литературы позволил выявить основные морфологические особенности, позволяющие дифференцировать имеющиеся у нас штаммы. Так, для альтернативных наиболее значимыми морфологическими признаками являются размер и форма конидий, особые образования конидий (цепочки, отсутствие ветвления), наличие вторичного конидиеносца, форма спорангия.

Для аспергиллов такими признаками являются различия пигментации, поверхностная структура конидиеносцев, расположения фиалид, наличие особых структур у спор.

Для *Fusarium* - выраженность окраски мицелия, форма и размер конидиеносца, наличие хламидоспоры, форма и размер микроконидий.

Для *Penicillium* - сложность структуры конидии, наличие эксудата, пигментация питательной среды, окраска контура мицелия.

Все вышеописанные данные и особенности позволили нам создать ключи для установления родовой и видовой принадлежности некоторых микромицетов. Определение микромицета проводят в следующем порядке: 1) определение рода, 2) определение вида.

В таблице для определения рода микромицета указаны признаки и особенности морфологии органы спороношения, при культивировании на среде PDA. При описании вида в большинстве случаев обозначено наличие особых структур в строении конидий, мицелия, а также наличия экссудата.

Для определения вида микромицета для начала необходимо установить родовую принадлежность гриба с помощью «Ключа для определения рода микромицета». Ключ представляет собой дихотомическую систему, состоящую из последовательных пунктов. Каждый пункт представляет тезу, которая заключается в высказывании, и антитезу, указанную в скобках в начале предложения. В случае согласия с приведенным высказыванием требуется перейти по указанию в ключе. В случае противоречий необходимо следовать по пункту, указанному в скобках. Аналогичная система применяется для установления вида микромицета. Для упрощения процесса установления видовой принадлежности в определителе визуализированы колонии на разных стадиях роста, а также микрофотографии органов спороношения. При наличии иллюстративного материала к данному виду в определительном ключе приводится ссылка на соответствующий рисунок.

Таким образом созданный атлас-определитель микромицетов, изолируемых с данной группы растений может быть использован студентами биологических специальностей, а также специалистами в сфере защиты растений для упрощения идентификации фитопатогенов.

Выводы

1. Микокомплекс сельскохозяйственных культур семейства паслёновые на территории Саратовской области включает 25 видов микромицетов 11 родов.

2. Наибольшее видовое разнообразие (по 4 вида) оказалось характерно для родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*.
3. Среди изолированных микромицетов на растениях томата доминировали виды *F. solani* (встречаемость 20 %), *R. stolonifer* (30 %) и *T. koningii* (29 %). Виды *A. niger* (22 %), *F. dimerum* (50 %), *M. ramosissimus* (28 %), *R. stolonifer* (50 %) преобладали на растениях картофеля. На растениях баклажана доминировали виды *A. solani* (20 %), *A. flavipes* (25 %), *M. ramosissimus* (23 %), *R. stolonifer* (22 %). Преобладание видов *A. niger* (21 %), *R. stolonifer* (70 %) отмечалось на растениях перца.
4. Наиболее схожи оказались микокомплексы перца, картофеля и баклажана (индекс общности видового состава 28 %), для перца и томата этот показатель составил 20 %, для картофеля и баклажана, томата – 16 %, для томата и баклажана – 12 %.
5. Среди изолированных видов обнаружены фитопатогены *A. alternata*, *A. carotiincultae*, *A. helianthin*, *A. solani*, *A. flavus*, *A. flavipes*, *A. niger*, *A. ustus*, *F. dimerum*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *M. racemosus*, *R. stolonifer*.
6. Создан атлас-определитель микромицетов, изолированных с сельскохозяйственных культур семейства пасленовые на территории Саратовской области.

Список использованных источников

1. Распределение плодородных земель в мире / [Электронный ресурс] // Официальный портал республики Башкортостан : [сайт]. – URL: <https://www.bashkortostan.ru/presscenter/news/22599/> (Дата обращения: 06.03.2024). Загл. с экрана. – Яз. Рус.

- 2 Картофель / [Электронный ресурс] // Интернет-издание VC.RU : [сайт]. – URL: <https://vc.ru/trade/501854-kartofel-svoy-ili-chuzhoi> (Дата обращения: 06.03.2024). Загл. с экрана. – Яз. Рус.
- 3 Биология и технология выращивания баклажана в интенсивном овощеводстве / [Электронный ресурс] // Курс лекций КубГАУ : [сайт]. – URL: <https://kubsau.ru/upload/iblock/6d8/6d8e344036737299a33b664a6949c61e.pdf> (Дата обращения: 06.03.2024). Загл. с экрана. – Яз. Рус.
- 4 Помидоры открытого грунта: площади и сборы в России / [Электронный ресурс] // Экспертно-аналитический центр агробизнеса АБ-центр : [сайт]. – URL: <https://web.archive.org/web/20220702190452/https://ab-centre.ru/news/pomidory-otkrytogo-grunta-ploschadi-i-sbory-v-rossii-v-2001-2021-gg> (Дата обращения: 06.03.2024). Загл. с экрана. – Яз. Рус.
- 5 Посадка картофеля в саратовской области / [Электронный ресурс] // Центр компетенций ИКС АПК Саратовской области : [сайт]. – URL: <https://saratovagro.ru/novosti-apk/v-saratovskoy-oblasti-zavershiliposa/> (Дата обращения: 06.03.2024). Загл. с экрана. – Яз. Рус.
- 6 Благовещенская, Е. Ю. Фитопатогенные микромицеты. Учебный определитель / Е. Ю. Благовещенская. – М.: ЛЕНАНД, 2015. – 240 с.
- 7 Определитель патогенных и условно патогенных грибов / Д. Саттон, А. Фотергилл, М. Ринальди; Пер. с англ. К. Л. Тарасова и Ю. Н. Ковалева; Под ред. И. Р. Дорожковой. - Москва: Мир, 2001. – 468 с.
- 8 Гагкаева Т. Ю. Классификация грибов рода *Fusarium* – дискуссия длиною в двести лет Микология сегодня. Том. 2. - М.: Национальная академия микологии, 2011.- С. 14-29.
- 9 *Fusarium* diseases of cultivated plants, control, diagnosis, and molecular and genetic studies [Электронный ресурс] / Tsutomu Arie / Электронный журнал J-Stage : [сайт]. – URL: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpestics/44/4/44_J19-03/_article/-char/ja/ (Дата обращения: 18.03.2025). Загл. с экрана. – Яз. Английский.

