

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

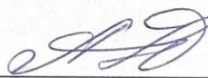
Кафедра микробиологии
и физиологии растений

**ЭПИФИТНАЯ И ЭНДОФИТНАЯ МИКРОБИОТА РАСТЕНИЙ
ПЕРЦА СТРУЧКОВОГО (*CAPSICUM ANNUUM* L., 1753)
В УСЛОВИЯХ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 2 курса 241 группы
направления подготовки магистратуры 06.04.01 Биология
биологического факультета
Теккозян Кристины Рубеновны

Научный руководитель
к.б.н., доцент



А. М. Петерсон
19.06.2025г.

Заведующий кафедрой
д.б.н., профессор



С. А. Степанов
19.06.2025г.

Саратов 2025

Введение

Актуальность темы. Перец стручковый (*Capsicum annuum* L. 1753) – одно из важнейших культурных растений, широко используемое в пищевой промышленности благодаря своим полезным свойствам и высокой питательной ценности [1]. Существует огромное разнообразие подвидов перца стручкового, которые отличаются, прежде всего, по содержанию в плодах капсаицина. По шкале Сковилла, капсаицин практически полностью отсутствует в плодах перца сладкого (*Capsicum annuum* var. *grossum* L.), что делает его наиболее востребованным в качестве продукта питания [2].

Растения перца возделываются во всем мире. В России промышленное производство перца сосредоточено, в основном, на Северном Кавказе, Юге и в Поволжье [3]. Таким образом, Саратовская область входит в число лидеров по выращиванию сладкого перца в нашей стране.

Выращивание растений перца осуществляется при сравнительно высоких температурах и влажности почвы, что благоприятствует развитию вредителей и болезней. По разным данным, потери урожая в России достигают 30% [4]. Причём зачастую схожие поражения могут вызывать различные возбудители и для успешной борьбы с ними нужно иметь чёткое представление об их видовом составе в каждом регионе.

Однако такие данные по Саратовской области отсутствуют, что делает актуальным изучение этого вопроса в нашем регионе.

В связи с этим, целью моей работы стал анализ эпифитной и эндофитной микробиоты растений перца стручкового (*Capsicum annuum* L., 1753), в условиях Саратовской области.

Для реализации указанной цели были поставлены и решены следующие задачи:

1. Выявить особенности структуры микробиоты растений перца стручкового.
2. Установить влияние микробиоты почвы на видовой состав микробиоты растений. перца.

3. Провести сравнительный анализ микробных ассоциаций растений перца, выращенных в разных районах Саратовской области.

4. Выявить сезонную динамику качественных и количественных характеристик микробиоты растений перца.

5. Проанализировать микробиоту плодов перца с различными поражениями и выделить фитопатогенные микроорганизмы.

6. Установить антагонистическую активность бактерий-ассоциантов растений перца по отношению к фитопатогенным грибам, изолированным с данной культуры, и оценить их безопасность для растений.

Материал и методы исследования. Работа проводилась в вегетационные сезоны 2023-2024 годов. Материалом для исследования послужили листья и плоды растений перца (*Capsicum annuum* L., 1753), которые были отобраны на территории фермерских хозяйств в 7 районах Саратовской области. Забор проб для микробиологических исследований в г. Саратов производили на территории УНПК «Агроцентр» Саратовского ГАУ им. Н.И. Вавилова.

Объектом исследования послужили растения перца стручкового. Всего было исследовано 70 проб листьев и 60 проб поражённых плодов.

При микробиологических исследованиях растений для всех посевов использовали питательные среды PDA, картофельную среду, ГРМ-агар.

Микробиологические исследования растений проводились по стандартным методикам (метод разведения, метод отпечатка, метод посева гомогенизата, метод культивирования во влажной камере и др.).

Идентификацию бактерий проводили по фенотипическим признакам. Постановку всех тестов проводили по общепринятым методикам.

Идентификацию бактерий проводили с помощью определителя «Bergey's manual of determinative bacteriology» [5] и сайту ABIS (BIOCHEMICAL IDENTIFICATION) [6].

Идентификация выделенных штаммов грибов осуществлялась на основе анализа культуральных свойств, морфологии мицелия и органов

спороношения на различных стадиях развития при помощи определителя грибов Д. Саттона с соавторами [7], Ф. Б. Ганнибала [8] и Е. Ю. Благовещенской [9].

Индексы общности видового состава микробоценозов 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 бактерии данного вида к общему числу проб, выраженное в процентах.

Для определения нормальности распределения данных использовали тест Шапиро-Уилка. Для попарного сравнения групп использовали тест Уилкоксона. Для определения наиболее эффективного штамма антагониста использовали анализ Крускала-Уоллиса. Расчеты выполняли с использованием программного обеспечения STATISTICA 10.

Структура и объём работы. Работа изложена на 65 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников. Работа проиллюстрирована 17 таблицами и 14 рисунками. Список использованных источников включает 59 наименований.

Научная новизна. Впервые было проведено комплексное изучение микробиома растений перца в условиях Саратовской области. Впервые установлены особенности циркуляции эпифитных и эндофитных микроорганизмов на данной культуре в регионе, включая сезонные колебания и пространственное распределение. Выявлен спектр потенциальных возбудителей порчи плодов.

Научная значимость. Проведённые исследования позволили получить новые данные о структуре и динамике микробных сообществ растений перца в условиях Саратовской области. Полученные данные не только расширяют фундаментальные представления о микробных взаимодействиях в агроценозах, но и служат научной основой для разработки новых биотехнологических подходов к защите растений перца от фитопатогенов в условиях региона.

Положения, выносимые на защиту:

1. Микробиота растений перца в Саратовской области характеризуется устойчивым доминированием бактерий рода *Bacillus* (*B. pseudomycoides*, *B. amyloliquefaciens*) и грибов *Rhizopus stolonifer*, что отражает их высокую адаптивность к региональным агроэкологическим условиям.
2. Почвенная микробиота является основным источником формирования микробных сообществ растений перца, о чем свидетельствует 100% индекс общности доминирующих видов между почвой и филлосферой растений.
3. Штаммы бактерий-ассоциантов *B. amyloliquefaciens* Б36 и *B. halodurans* Б18 обладают выраженной антагонистической активностью против основных фитопатогенов перца без негативного воздействия на растения, что определяет их потенциал для разработки биопрепаратов регионального назначения.

Основное содержание работы

В главе «Обзор литературы» представлен анализ литературных данных о биологических особенностях *Capsicum annuum*, нормальной микрофлоре этих растений, проведён обзор фитопатогенных микроорганизмов, вызывающих заболевания растений перца.

В главе «Результаты исследования» представлены экспериментальные данные о видовом составе и динамике микробных сообществ растений перца в различных районах Саратовской области, доминирующих видах микроорганизмов. Особое внимание уделено изучению бактерий с антагонистической активностью – исследована их способность подавлять развитие фитопатогенных грибов и оценено влияние на растения-хозяева.

Всего в ходе исследования было выделено 65 бактериальных штаммов и 50 грибных. В результате идентификации, выделенные изоляты были отнесены к 13 видам бактерий и 15 видам грибов.

В ходе таксономического исследования было выявлено, что бактериальная микрофлора была представлена преимущественно бактериями рода *Bacillus*, в частности, *B. pseudomycooides* – на поверхности и *B. simplex* во внутренних тканях. Среди микромицетов доминирующим видом грибов как на поверхности, так и во внутренних тканях являлся *R. stolonifer*.

Сравнительное исследование видового состава почвенной микробиоты с эпифитной и эндофитной микробиотой выращиваемых на ней растений перца. Оказалось, что основной доминант бактерия *B. pseudomycooides* демонстрирует высокую встречаемость как в почве, так и в растениях, что подтверждает предположение о сходстве микробиоты этих экониш.

Сравнительный анализ встречаемости микроорганизмов, выделенных из разных районов Саратовской области. Лишь два вида *B. pseudomycooides* и *B. simplex* имели высокие показатели встречаемости как в лево-, так и в правобережье. При анализе грибной микробиоты было выявлено, что самыми часто встречающимися видами были *R. stolonifer* и *A. solani*.

Индекс общности бактериальной микробиоты растений перца, выращенных в право- и левобережье Саратовской области, составил 46,2 %, грибной микробиоты – 53,4 %.

Исследование микробиоты растений перца в период начала вегетации (вторая декада июня) и в период уборки урожая (вторая декада сентября). Наблюдалась смена доминирующих видов как среди бактерий, так и среди грибов. Наибольшей стабильностью среди бактерий обладал *B. pseudomycooides*, среди грибов – *A. solani*, *A. niger*, *F. oxysporum* и *R. stolonifer*.

Индекс общности видового состава бактериальной микробиоты в разные сезоны составил 46,2 %. Для грибной микробиоты этот показатель был значительно выше – 66,7 %, что указывает на относительную стабильность грибного сообщества.

Следующим этапом исследования было выявлено три типа поражения плодов, встречающихся на территории Саратовской области. Первая группа включала в себя плоды с сухими зонами некроза с серым налетом. Во вторую

группу входили плоды с мокрыми гнилями. В третью группу входили плоды с некрозом и гнилью.

Наиболее часто встречающимися видами грибов были *F. oxysporum*, *A. solani* и *R. stolonifer* (индекс встречаемости более 60 %). Данные микромицеты встречались только в поражениях с сухими зонами некроза, из плодов с мокрой гнилью данные грибы не выделялись. Из плодов перца с характерными мокрыми гнилями выделялись бактерии *B. pumilus* и *B. pseudomycoides*. Все выделенные виды широко распространены на вегетативной части растений перца, где не наносят растениям заметного вреда. Однако, попав на плоды, они начинают там активно размножаться и вызывать различные варианты порчи.

Таким образом, в агроценозах Саратовской области циркулирует большое количество различных фитопатогенных микроорганизмов, которые встречаются как на здоровых, так и на больных растениях. Фитопатогенные микроорганизмы являются частью нормальной микробиоты перца, следовательно, данные заболевания развиваются уже в процессе транспортировки и хранения готовой продукции.

Нами была исследована способность бактерий-антагонистов, изолированных с растений перца, подавлять рост фитопатогенных грибов, являющихся распространенными возбудителями заболеваний этой культуры

Наиболее эффективное подавление фитопатогенов показали *B. amyloliquefaciens* и *B. halodurans*, что может быть связано с их способностью к продукции различных биологически активных веществ. По литературным данным известно, что *B. amyloliquefaciens* обладает антибактериальной и фунгистатической активностью, способен синтезировать сурфактины, итурины и фенгицины, а также лантипептиды, проявляющие свойства лантибиотика для защиты растений от инфекций [10]. *B. halodurans* так же продуцирует антибактериальные вещества и сидерофоры, которые имеют высокое сродство к железу, таким образом, ограничивая доступ этого вещества для фитопатогенов, вызывая, тем самым, угнетение роста [11].

Для проверки безопасности данных штаммов для самих растений была проведена инокуляция данными культурами листовых пластинок перца в условиях *in vivo*. Данный анализ показал, что ни один из тестируемых штаммов бактерий не вызвал каких-либо негативных реакций или признаков повреждения на растениях перца.

В дальнейшем растения были высажены в открытый грунт, где за ними велось наблюдение в течение месяца. В конце этого периода никаких патологических изменений на экспериментальных растениях отмечено не было.

Это свидетельствует о том, что штаммы *B. amyloliquefaciens* Б36 и *B. halodurans* Б18 являются безопасными для растений перца: они не проявляют токсического действия и не вызывают развития заболеваний даже при нанесении на поврежденные ткани. Таким образом, штаммы *B. amyloliquefaciens* Б36 и *B. halodurans* Б18 можно рекомендовать к использованию в качестве основы биофунгицидов для борьбы с грибковыми заболеваниями растений перца.

Выводы

1. Микробиота растений перца включала 13 видов бактерий родов *Bacillus*, *Paenibacillus* и *Pseudomonas*, и 15 видов грибов родов *Alternaria*, *Ulocladium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Mucor*.

2. В микробиоте растений перца доминировали бактерии *B. pseudomycoides* и грибы *R. stolonifer* (встречаемость на поверхности растений 70 %), что указывает на их высокую адаптивность к условиям Саратовской области.

3. Показана тесная взаимосвязь бактериальной микробиоты растений перца и почвы, на которой они выращиваются: индекс общности видового состава составил 100 %, а доминирующие почвенные бактерии (*B. amyloliquefaciens*, *B. pseudomycoides*) преобладали и на растениях.

4. Индекс общности бактериальной микробиоты растений перца, выращенных в право- и левобережье Саратовской области, составил 41,7 %, грибной микробиоты – 53,4 %.

5. Выявлена существенная вариабельность видового состава микробиоты растений перца в течение вегетационного сезона: индекс общности видов, изолированных с исследуемых растений в начале и конце вегетации, составил у бактерий 46,2 %, у грибов этот показатель был существенно выше – 66,7 %.

6. На плодах перца с сухими зонами некроза доминировали фитопатогенные грибы *A. solani* (встречаемость 70 %), *F. oxysporum* (70 %) и *R. stolonifer* (60 %), с мокрыми гнилями – бактерии *B. pumilus* (60 %).

7. Бактерии-ассоцианты обладали антагонистической активностью в отношении основных фитопатогенов, изолированных с исследованных растений. Наиболее эффективными оказались штаммы *B. amyloliquefaciens* Б36 (степень подавления грибов 47,5-81,6 %) и *B. halodurans* Б18 (39,0-78,9 %). Максимальное подавление роста отмечено для *A. solani* (81,6 %) и *F. moniliforme* (72,1 %).

8. *B. amyloliquefaciens* Б36 и *B. halodurans* Б18 оказались безопасными для растений перца и могут рассматриваться как потенциальные агенты для создания новых биопрепаратов, направленных на защиту данной культуры от фитопатогенных грибов.

Список использованных источников

1 Russo, V. M. Peppers: botany, production and uses / V. M. Russo. – Wallingford: CABI, 2012. – 280 с.

2 Изменение химического состава плодов перца сладкого от степени зрелости и условий хранения / В. А. Мачулкина [и др.] // Пути улучшения повышения качества хранения и переработки сельскохозяйственной продукции и её экономическое значение в развитии сельского хозяйства: сборник научных статей / ФГБОУ ВПО "Астраханский гос. техн. ун-т. – Астрахань, 2015. – С. 59-65.

3 Хранение перца сладкого свежего – традиционные и перспективные технологии / Т. В. Першакова [и др.] // Известия Дагестанского ГАУ. – 2024. – Т. 2, № 22. – С. 334-348.

4 Перец сладкий: хозяйственное значение [Электронный ресурс] // Свое фермерство [Электронный ресурс]: [сайт]. – URL: <https://svoefermerstvo.ru/agrowiki/articles/perec-sladkij-hozjajstvennoe-znachenie> (дата обращения 20. 03. 2025). – Загл. с экрана. – Яз. рус.

5 Определитель бактерий Берджи; в 2-х 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. – V. 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 Ганнибал, Ф. Б. Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода *Alternaria* / Ф. Б. Ганнибал. – Санкт-Петербург: Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений РАСХН, 2011. – 70 с.

9 Благовещенская, Е. Ю. Фитопатогенные микромицеты. Учебный определитель / Е. Ю. Благовещенская. – М.: ЛЕНАНД, 2015. – 240 с.

10 Cawoy, H. Bacillus-based biological control of plant diseases. /H. Cawoy [et al.]. – London: IntechOpen, 2011. – P. 273-302.

11 Takami, H. Complete genome sequence of the bacterium *Bacillus halodurans* / H. Takami [et al.] // Nucleic acids research. – 2000. – V. 28, № 21. – P. 4317-4331.

