

Направление: Агропромышленные и биотехнологии

УДК: 579.64:631.847.2

ГРНТИ: 68.37.31 (Защита растений от болезней и вредителей) /
34.27.29 (Биотехнология микроорганизмов)

РАЗРАБОТКА БИОПРЕПАРАТА-ДЕСТРЕССАНТА НА ОСНОВЕ ЭНДОФИТНЫХ
БАКТЕРИЙ ГАЛОФИТА ДЛЯ ЗАЩИТЫ ПОДСОЛНЕЧНИКА
ОТ СОЛЕВОГО СТРЕССА

Квашук Анатолий, Данилов Александр, Саранчин Евгений
Тюменская область, г. Тюмень, ФГКОУ
«Тюменское президентское кадетское училище»

АННОТАЦИЯ

Работа посвящена поиску эндофитных бактерий астры паннонской (*Tripolium pannonicum*), способных повышать устойчивость растений к засолению. В ходе исследования была собрана коллекция из 16 штаммов из 8 географических точек Западной Сибири. Установлено, что все выделенные изоляты являются грамотрицательными палочками, причём 7 штаммов проявили галотолерантность (рост на среде с 5% NaCl). Ранее описанный штамм, продуцирующий красный пигмент, обнаружен не был, что указывает на его случайный, а не обязательный симбиоз с растением. В лабораторном эксперименте два галотолерантных штамма (2.1 и 6.1) показали значительный положительный эффект, повысив выживаемость и улучшив состояние проростков подсолнечника в условиях солевого стресса. Результаты работы свидетельствуют о разнообразии галотолерантных эндофитов астры паннонской и выявляют конкретные штаммы-кандидаты для дальнейшей разработки биопрепарата, направленного на повышение солеустойчивости сельскохозяйственных культур.

Ключевые слова: *Tripolium pannonicum*, астра паннонская, эндофитные бактерии, галотолерантность, засоление почв, солевой стресс, биопрепарат, подсолнечник.

DEVELOPMENT OF A BIOPREPARATION-DESTRESSANT BASED ON ENDOPHYTIC
BACTERIA OF A HALOPHYTE FOR PROTECTION OF SUNFLOWER AGAINST SALT
STRESS

Kvashuk Anatoly, Danilov Alexander, Saranchin Evgeny
Tyumen Region, Tyumen, FSEI "Tyumen Presidential Cadet School"

ABSTRACT

The work is devoted to the search for endophytic bacteria of sea aster (*Tripolium pannonicum*) capable of increasing plant tolerance to salinisation. During the study, a collection of 16 strains from

8 geographical locations in Western Siberia was assembled. All isolated isolates were found to be Gram-negative rods, with 7 strains exhibiting halotolerance (growth on medium with 5 % NaCl). The previously described strain producing a red pigment was not detected, indicating that it is a casual rather than an obligate symbiont of the plant. In a laboratory experiment, two halotolerant strains (2.1 and 6.1) showed a significant positive effect, increasing survival and improving the condition of sunflower seedlings under salt stress. The results demonstrate the diversity of halotolerant endophytes in *Tripolium pannonicum* and identify specific candidate strains for further development of a biopreparation aimed at enhancing salt tolerance of agricultural crops.

Keywords: *Tripolium pannonicum*, sea aster, endophytic bacteria, halotolerance, soil salinisation, salt stress, biopreparation, sunflower.

ВВЕДЕНИЕ

Дикорастущие галофильные растения разными способами приспосабливаются к проблеме избытка солей. Одним из таких приемов являются симбиозы с бактериями, которые, поселяясь в тканях растений защищают их от высокого осмотического давления [1]. К числу подобных растений относится распространённая на солончаках Астра Паннонская. В лаборатории ТПКУ ранее проводились исследования этого растения на наличие в его тканях эндофитных бактерий [2]. Авторам удалось выделить три эндофитных бактерии из образца астры взятой на солончаке из Тюменской области. Одна из них проявляла очень интересную способность – обладала способностью выделять пигмент красного цвета. Авторы предполагают, что эта бактерия может защищать растение-хозяина от избытка ультрафиолета. Ряд других штаммов исследовали на способность защищать растение - хозяина на устойчивость к засолению почвы. Но количество штаммов таких бактерий было незначительным. Поэтому мы решили изучить большее количество образцов астры паннонской и обозначить следующую цель: Выделить перспективные штаммы галотолерантных эндофитных бактерий из *Tripolium pannonicum* (астры паннонской) и экспериментально обосновать возможность их использования в качестве основы для биопрепарата, повышающего солеустойчивость подсолнечника (*Helianthus annuus*). Исходя из цели, были обозначены следующие задачи:

1. Сформировать репрезентативную коллекцию эндофитных бактерий из тканей *Tripolium pannonicum*, собранных в различных биотопах Тюменской области и сопредельных регионов.
2. Провести первичный скрининг и таксономическую идентификацию изолятов: оценить морфологические, культуральные свойства, галотолерантность (рост на средах с 5% NaCl и ниже) и определить родовую принадлежность перспективных штаммов методом секвенирования гена 16S рРНК.

3. Оценить потенциал селекции *in vitro*: отобрать наиболее активные галотолерантные штаммы по результатам скрининга и провести лабораторные эксперименты по их влиянию на рост проростков подсолнечника в условиях солевого стресса (1% NaCl).
4. Провести вегетационный эксперимент *in vivo*: испытать влияние наиболее перспективных бактериальных штаммов на выживаемость, рост и биомассу подсолнечника в условиях моделируемого засоления грунта (смесь солончаковой и обычной почвы).
5. Систематизировать полученные данные и разработать концепцию биопрепарата: на основе результатов всех этапов работы предложить состав, форму и предполагаемый механизм действия биопрепарата-дестрессанта, подготовить рекомендации для дальнейших исследований.

В качестве гипотезы выступало предположение о том, что в тканях астры паннонской обитают эндофитные бактерии способные к защите от солевого стресса.

Объект исследования: эндофитные бактерии из тканей Астры паннонской.

Предмет исследования: разнообразие и возможное влияние на устойчивость к засолению эндофитных бактерий из тканей Астры паннонской

Актуальность исследования: возможность создания солеустойчивости культурных растений может привлечь в севообороты земли многих южных районов Тюменской области и других регионов.

Новизна: Работ по изучению бактерий-эндофитов Астры паннонской и их идентификации ранее в Тюменской области не проводилось.

1.ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Астра солончаковая паннонская очень распространенный вид из семейства сложноцветных. На январь 2026 года в мире, по данным iNaturalist [3], сделано 9237 наблюдений такого растения. Большая часть из них приходится на Европу, южную часть Центральной и Азиатской России, Китай и Южную Корею. По данным источника Flora of China [4] это растения предпочитают солончаки, солончаковые и влажные луга, прибрежные морские зоны и берега рек. Работ, связанных с изучением эндофитных микроорганизмов в тканях этого вида немного. Наиболее полной можно считать работу польских последователей [5]. Из растений засоленного луга им удалось выделить эндофитные штаммы с доминированием грамположительных бактерий и определить их высокую специфичность и метаболической активности. Примером полноценного исследования эндофитов и ризосферных бактерий в тканях астры паннонской можно считать вышеуказанную работу

Дмитриенко с соавт. [2]. Им удалось извлечь три эндофитных штамма и изучить их влияние к устойчивости к засолению в лабораториях и полевых исследованиях. Один из штаммов (Ар3) показал положительное влияние на рост и массу 1000 семян у подсолнечника. По их данным, этот штамм позволил увеличить массу 1000 семян на 66% от контроля от поливаемого соленой водой, но без бактерий.

В целом, работ, посвященных адаптации культурных растений к засоленным почвам с помощью галофильных или галотолерантных бактерий из галофитов, достаточно много. Можно упомянуть работу Суярова Р. А. с соавт. [6]. Они получили эндофитные бактерии и грибы из трех галофитов Аральского бассейна. Целый коллектив ученых из США [7] выделили эндофитные бактерий из трех галофитов Юга. Им удалось получить положительные результаты роста инокулированной этими бактериями растения Люцерна на 1% засолении.

Необходимо выделить и работы описывающие возможные механизмы взаимодействия эндофитных бактерий с растениями соленых мест обитания. Глубоко представлен анализ этого вопроса в работах узбекистанского ученого Аликулова Б.С. [8]. Он отмечает, что основными биохимическими механизмами является выделение бактериями индолинуксусной кислоты (ИУК), цитокининов, гибберилловой, абсцизовой, салициловой и жасмоновой кислот. В работе Furcan Orhan [9] на инокулированной галофильными бактериями пшенице автор также фиксировал выделение 1-аминоциклопропана-1-карбоксилатдеаминазы.

В Тюменской области Астра солончаковая паннонская обитает в основном в южных районах [10]. Но, вероятно, в силу засоления придорожных территорий, ее часто можно обнаружить и в городах. Поэтому исследования эндофитов этого растения носит, во-первых, систематический характер. Во-вторых, при наличии высокого разнообразия галофильных или галотолерантных эндофитов, вероятность обнаружить ценный штамм для селекции на устойчивость сельскохозяйственных растений семейства Астровых к засолению, будет более высокой.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проводилась на базе лаборатории химии и биологии ТПКУ. Всего за лето 2025 года удалось собрать 8 образцов растений астры паннонской (приложение 1) из различных территорий. (Таблица 1).

Таблица 1.

Локации образцов Астры паннонской собранных летом 2025г.

№ образца	Описание точки сбора	Координаты (шир/долг)
-----------	----------------------	-----------------------

1	Окрестности пос. Исетское	56.5090100257, 65.3454097908
2	Омская обл, пос. Ивановка	55.1102305, 75.2366333333
3	Новосибирская обл. пос. Устьянцево	55.2990033333, 77.961045
4	с.Ембаево, Тюменская обл	57.1478225336, 65.7676742861
5	с. Солобоево, Тюменская область	56.4467616667, 65.3906333333
6	г.Тюмень, обьездная дорога, Червиш.тр	57.1192055, 65.5210883333
7	г.Тюмень, обьездная дорога, Ямская	57.1594611667, 65.4397133333
8	Тюменская область, с. Суерка	56.2576633333, 66.0190721667

Определение растений проводили визуально по определителю Глазунова В.А. с соавторами [11]. Также использовалась общепризнанная ученым сообществом интернет платформа на основе ИИ - iNaturalist.

Получение и выделение эндофитных бактерий проводили по стандартным протоколам [12]. Засеивали стерильные корни и нижнюю часть стеблей на среду LB и термостировали при $t +28^{\circ}\text{C}$. Затем формировали изоляты методом уменьшающегося штриха, которые проверяли на галофильность при солёности 5% NaCl. Также проводили окрашивание по Граму с последующим микроскопированием. Для точности определения бактерий по Граму использовали методику с 3% КОН [12].

С изолированными бактериями проводили исследования на предмет влияния этих микроорганизмов на устойчивость растений - хозяев к засолению грунта. Для этого инокулировали бактериями проросшие и предварительно простерилизованные семена подсолнечника по методике, описанной в работе Кожемякина А.П. с соавт. [13]. Полученные после двух часов инокуляции семена (по 10 шт) с предварительно проросшими корнями высевали в грунт с солончаковой почвой. Фиксировали рост и количество погибающих растений.

Выделение ДНК для секвенирования и определения рода бактерий проводили с помощью набора HiPure Soil DNA Kit. Определение бактерий проводили, секвенируя ген 16s рРНК (по Сенгеру), отправляя образцы ДНК в компанию «Евроген» [14]. После получения данных о последовательности нуклеотидов в указанном гене, проводили идентификацию изучаемых штаммов с помощью международной базы NCBI.

3. АНАЛИЗ НАБЛЮДЕНИЙ И ЭКСПЕРИМЕНТОВ

3.1. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ

Как отмечалось выше, первый этап нашей работы был посвящен поиску, определению и сбору образцов растений Астры паннонской. Часть образцов была предоставлена научным руководителем, а несколько растений были определены и доставлены в лабораторию

самостоятельно. В итоге, нам удалось сформировать внушительную по географии коллекцию астр (рисунок 1).



Рис.1. Образцы летних находок Астры паннонской

Для выделения необходимых бактерий мы отделяли от каждого образца часть корневой системы и кусочки стебля. После стерилизации в 10% белизне и промывании стерильной водой, эти образцы размещали на поверхности агаризированного LB и термостировали при $t = +28^{\circ}\text{C}$. На следующие сутки во всех чашках Петри наблюдали рост эндофитных бактерий (приложение 2). Самым важным результатом, сразу отмеченным нами, было отсутствие бактерии, окрашивающейся в розовый цвет. То есть, эндофит из тканей астры паннонской полученный годом ранее в нашей лаборатории [2], оказался случайным, и, вероятно, паразитическим видом бактерии.

Все бактерии из чашек Петри были изолированы в отдельные чашки (с LB), и с ними проводились анализы окрашивания по Граму и анализ на галофильность. При этом, было решено выделить по два штамма из каждой астры и нумеровать их по месту прорастания: из корней – номер 1, а из стебля – номер 2. Таким образом, мы получили шестнадцать штаммов с порядковыми номерами: 1.1, 1.2; 2.1, 2.2; и т.д. до 8.1 и 8.2. (приложение 3).

Визуальный анализ внешнего строения колоний этих бактерий показал, что общее количество видов составляет 7. Отмечалось и различие бактерий из корневых и стеблевых фрагментов. К числу таких относились номера 1.1 и 1.2. и 4.1 с номером 4.2. Большая часть колоний характеризовались бежевым цветом и округлыми краями. Номер 1.2 выделялся меньшей скоростью роста и желтым цветом. Номер 4.2 рос с выраженными кругами беловатого цвета. Особенно интересными оказались бактерии из третьего образца (Новосибирская область). Оба: 3.1 и 3.2 были схожи по форме края и слегка розовому окрашиванию. Но в сравнении с полученной ранее красной бактерией Ap1 [2], количество пигмента явно уступало.

Следующим шагом было определение всех штаммов на грамположительность или отрицательность. Сначала все бактерии были проверены с помощью 3% КОН. В результате, все сто процентов эндофитных бактерий показывали эффект тянущихся нитей и это означало, что они грамотрицательные. Это подтвердилось при окрашивании (рисунок 2) и последующем микроскопировании (приложение 4).



Рис.2. Последняя стадия окрашивания по Граму – закапывание фуксина

Анализ микрофотографий показал, что все бактерии являются палочковидными бациллярными формами. Но длина и толщина этих бацилл были различными. Выделенный ранее по желтоватому цвету штамм 1.2 выделялся более вытянутыми клетками. Номер 4.2 обладал самыми короткой формой клеток. Номера 3.1 и 3.2 по форме клеток были схожи с большинством. Также ряд штаммов обладал спорообразованием. Это такие образцы как: 1.2, 3.1 и 3.2, 4.1, 5.1 и 5.2, 6.1, 7.2 и 8.2. В целом, оценка по парам «корень-стебель» показала, что одинаковыми можно считать только бактерии из образцов астры с номерами 3 и 5.

Чтобы разобраться с количеством реальных видов бактерий, мы решили проверить их на галофильность. Для этого все указанные 16 образцов были высеяны в жидкую LB среду с концентрацией NaCl 5%. Оценку роста культур проводили визуально по мутности питательной среды при термостировании + 28⁰С. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Оценка галофильности эндофитных бактерий

№	1.1	1.2	2.1	2.2	3.1	3.2	4.1	4.2	5.1	5.2	6.1	6.2	7.1	7.2	8.1	8.2
---	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

+-*	+	-	+-	+	-	-	+-	+-	-	-	+	+	+	+	+	+
-----	---	---	----	---	---	---	----	----	---	---	---	---	---	---	---	---

*Знак + означает быстрый рост, знак – отсутствие роста, +- - медленный рост

В результате мы получили 7 образцов галофильных бактерий и все они хорошо росли на бессолевой среде, то есть являются галотолерантными. Вероятно, они представляют собой особую ценность, поскольку предполагается, что, обладая этим качеством (галотолерантностью), они смогут потенциально защищать растение «сожителя» от перепадов солености.

Подводя итоги этой части исследования, можно сказать следующее. Эндофитная бактерия Ar1 обнаруженная ранее Дмитренко Г. и Плотниковым Р. [2]. является случайной находкой. Она не обязательный эндофит Астры паннонской и вряд ли защищает это растение от засоления, т.к. не является, как минимум, галофилом. Мы предположили, что у этого вида, вероятно, нет строгого симбионта, так как обнаруженные нами эндофитные бактерии значительно различались по внешним характеристикам. Общее у них только одно – это палочковидные грамотрицательные бактерии.

3.2. ОПЫТЫ ПО ИЗУЧЕНИЮ ВЛИЯНИЯ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ НА РОСТ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ ПОЧВЫ

Поскольку Астра паннонская - представитель семейства Астровых, мы решили проверять выделенные нами бактерии на подсолнечнике. Выделенные нами галотолерантные штаммы: 1.1, 2.1, 6.1, 7.1 и 8.1 были высеяны в жидкую LB среду с концентрацией соли 5%. После двух суток термостирования (+ 28⁰C) суспензии с этими бактериями выливали в стерильные чашки Петри с предварительно простерилизованными и проросшими семенами подсолнечника. Через 2 часа инокуляции по 10 проросших семян высевали в отдельные емкости (приложение 4). В качестве контроля использовали семена не обработанные бактериями. Грунтом служила смесь обычной магазинной почвы (чернозем) и грунта, привезенного летом из солончака недалеко от поселка Суерка. Химический анализ этой почвы проводил годом ранее Серебренников Т. [15]. Согласно его данным, почва этого солончака характеризуется как: «Светло-бурая, плотная, сильнощелочная. Общая щелочность: 0,320%. Содержание анионов: 0,082% Cl-, 0,0079% SO42-. Луговой хлоридно-содовый солончак». Смешивали эту солончаковую почву с обычной в пропорции 1:2 соответственно. Наблюдали за высотой всходов, их внешним видом и через 19 дней выкопали и сфотографировали результат (рисунок 3).



Рис.3. Внешний вид всходов подсолнечника через 19 дней роста (справа - контроль)

Если поначалу все растения проявляли нейтральное отношение к почве, то после трехкратного полива 1% раствором соли, начали по-разному реагировать на этот стресс. Во всех вариантах наблюдалась гибель отдельных растений, но больше всего пострадали контрольные. По внешним характеристикам и количеству уцелевших растений были выделены штаммы эндофитных бактерий, оказавших наиболее положительный результат: **2.1** из Омской области и **6.1** из Тюмени. Из этих бактерий мы запланировали выделение ДНК для секвенирования и определения полученных ценных эндофитных штаммов.

Более того, для получения более достоверных результатов решено провести полноценный эксперимент с этими бактериями в начале марта. Будут заложены вместе с контролем по 30 проросших инокулированных семян подсолнечника в почву с другим соотношением – 1:1 обычной и солончаковой для усиления солевого стресса. Планируется проверить также влияние несоленой почвы в качестве еще одного контроля. Также, решено использовать более глубокие горшочки для послойного размещения грунта. Из работы Дмитренко Г. И. с соавт [2] удалось выяснить, что эндофитные бактерии могут защищать растение не сразу, а на более поздних стадиях. Поэтому мы планируем на дно горшочков насыпать соленую смесь (1:1 обычная и солончаковая почва), а в верхней части использовать обычный чернозем. В него будут высеваться инокулированные проросшие семена для развития первых стадий без солевого стресса.

3.3. РЕЗУЛЬТАТЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК

В феврале нам удалось выделить ДНК из пяти штаммов изучаемых бактерий. Два из них были получены ранее Дмитренко Г.И. с соавт. [2]. Это **Ap1** и **Ap3**. Из полученных нами штаммов были выделены ДНК из образцов: **2.1; 3.1 и 6.1**. Результаты секвенирования гена 16s рРНК указанных бактерий представлены в таблице 3.

Таблица 3.

Данные секвенирования (по данным NCBI)

[illegible]

Согласно полученным данным, в тканях образцов Астры паннонской были обнаружены бактерии только одного рода *Serratia*. Несмотря на то, что все растения, из которых были выделены эти штаммы, собраны в разных географических точках бактерия *Serratia* sp. является значимым и, вероятно, облигатным эндофитом (симбионтом) этого растения. При этом, род *Serratia* характеризуется высоким уровнем внутриродового/внутривидового разнообразия. Пигментообразование не является обязательным и, вероятно, штамм-специфичным признаком для эндофитных серраций астры. Доминирующими в новых сборах оказались непигментированные формы. В дальнейшем, мы можем использовать для описания своих штаммов символику с названием бактерий: ***Serratia* 2.1; *Serratia* 3.1 и *Serratia* 6.1.**

Полученные нами результаты согласуются с мировыми исследованиями последних лет. Так, Sayahi и соавторы (2024) показали, что галотолерантный штамм *Serratia* sp. C2 эффективно защищает томаты от солевого стресса и вирусной инфекции, улучшая физиологические показатели растений [16]. Novello с коллегами (2022) на протеомном уровне доказали, что эндофитные *Serratia plymuthica* активируют защитные белки в ответ на засоление, что объясняет механизм их положительного действия [17]. Выделенные нами штаммы *Serratia* 2.1 и *Serratia* 6.1, также проявили сходные свойства, защищая проростки подсолнечника в условиях солевого стресса. Это подтверждает перспективность использования бактерий данного рода для разработки биопрепаратов-дестрессантов."

4. ПРОЕКТ ПРАКТИЧЕСКОЙ РЕАЛИЗАЦИИ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведённое исследование и полученные промежуточные результаты позволили выделить и охарактеризовать ряд галотолерантных эндофитных бактерий из тканей Астры паннонской, что открывает перспективы для их практического применения в сельском хозяйстве, особенно в регионах с засоленными почвами. На основе полученных данных можно разработать комплексный проект по созданию биопрепарата для повышения солеустойчивости культурных растений, в первую очередь представителей семейства Астровых (подсолнечник, сафлор, топинамбур и др.), а также других сельскохозяйственных культур.

4.1. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ И СОЗДАНИЕ БАНКА ШТАММОВ

Для углублённого изучения и дальнейшего использования наиболее перспективных изолятов (таких как штаммы *Serratia 2.1* и *Serratia 6.1*, показавшие положительное влияние на рост подсолнечника в условиях засоления) необходимо провести их полную геномную характеристику:

1. Выделение тотальной ДНК из бактериальных культур стандартными методами (например, с использованием коммерческих наборов для экстракции ДНК).
2. Секвенирование гена 16S рРНК для точной таксономической идентификации бактерий и определения их филогенетического положения.
3. Создание криобанка выделенных и охарактеризованных штаммов в лаборатории ТПКУ или на базе сотрудничающей научной организации (Научно-исследовательской лаборатории антимикробной резистентности при Институте X-bio для долгосрочного хранения и воспроизводимости исследований).

Два из этих этапов проведены и мы располагаем информацией о родовой принадлежности наших образцов.

4.2. РАЗРАБОТКА ОПЫТНОГО БИОПРЕПАРАТА

На основе штаммов-кандидатов (*Serratia 2.1* и *Serratia 6.1* и, возможно, других ранее полученных галотолерантных изолятов) можно приступить к созданию прототипа биопрепарата:

1. Оптимизация условий культивирования: Подбор питательной среды и параметров ферментации (температура, аэрация, pH, время выращивания) для получения максимальной биомассы и сохранения полезных свойств бактерий.
2. Разработка носителя (формуляция): Использование в качестве носителя стерильного торфа, диатомита, глины или других материалов, обеспечивающих длительную жизнеспособность бактерий при хранении. Возможно создание жидкой формы препарата на основе буферного раствора.

3. Тестирование эффективности и доз: Проведение серии вегетационных и полевых экспериментов на разных культурах (подсолнечник, яровая пшеница, кукуруза) для определения оптимального способа применения (инокуляция семян, внесение в почву, опрыскивание вегетирующих растений), концентрации и кратности обработок.

4.3. АПРОБАЦИЯ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

Полученный биопрепарат целесообразно испытать в реальных агроэкологических условиях региона:

1. Выбор пилотных площадок: совместно с региональным департаментом АПК и сельхозпредприятиями южных районов Тюменской области (где наиболее актуальна проблема засоления) определить участки для проведения производственных испытаний.
2. Проведение полевых опытов: оценить влияние биопрепарата на ключевые агрономические показатели (всхожесть, выживаемость, рост, биомасса, урожайность) культур на засоленных и обычных почвах в сравнении с контролем и коммерческими аналогами.
3. Эколого-экономическая оценка: проанализировать:
 - Влияние на микробиоту почвы и её экологическое состояние.
 - Экономическую эффективность применения (соотношение затрат на препарат к приросту урожая или снижению затрат на мелиорацию).

Заключение по проекту:

Реализация данного проекта позволит не только внедрить в сельскохозяйственную практику Тюменской области экологически безопасную биотехнологию повышения продуктивности земель, но и создать основу для развития инновационного кластера в области сельскохозяйственной микробиологии. Работа, начатая на школьном уровне, имеет значительный потенциал для превращения в полноценный научно-прикладной результат с ощутимой социально-экономической отдачей для региона.

ВЫВОДЫ:

1. Молекулярно-генетический анализ (секвенирование гена 16S рРНК) показал, что исследованные штаммы эндофитных бактерий астры паннонской (2.1, 3.1, 6.1, Ap1, Ap3) принадлежат к роду *Serratia*. Несмотря на сбор растений в различных географических точках Западной Сибири, бактерии этого рода являются значимым и, вероятно, облигатным компонентом микробиома астры паннонской.
2. Эндофитное сообщество астры паннонской характеризуется высоким внутривидовым разнообразием. Из 8 образцов растения выделено 16 штаммов, относящихся как минимум к 7 морфотипам, что свидетельствует о пластичности и адаптационных возможностях бактерий рода *Serratia*.

3. Пигментообразование не является обязательным признаком для эндофитных серраций. Ранее описанный пигментированный штамм Ap1 представляет собой частный случай, тогда как доминирующими в новых сборах оказались непигментированные формы. Это указывает на то, что продукция красного пигмента является штамм-специфичным, а не видоспецифичным признаком.
4. Выделенные бактерии обладают ключевым для галофита признаком — галотолерантностью. Семь штаммов, включая перспективные *Serratia* 2.1 и *Serratia* 6.1, показали активный рост на среде с 5% NaCl, что подтверждает их адаптацию к условиям засоления и потенциальную роль в защите растения-хозяина.
5. В лабораторном эксперименте два штамма (*Serratia* 2.1 из Омской области и *Serratia* 6.1 из Тюмени) значительно улучшили выживаемость и состояние проростков подсолнечника в условиях солевого стресса по сравнению с контролем.
6. Результаты работы закладывают основу для прикладного проекта. Выделенные перспективные штаммы (*Serratia* 2.1 и *Serratia* 6.1) являются кандидатами для разработки биопрепарата-дестрессанта, повышающего устойчивость сельскохозяйственных культур (в первую очередь семейства Астровых) к засолению почв.

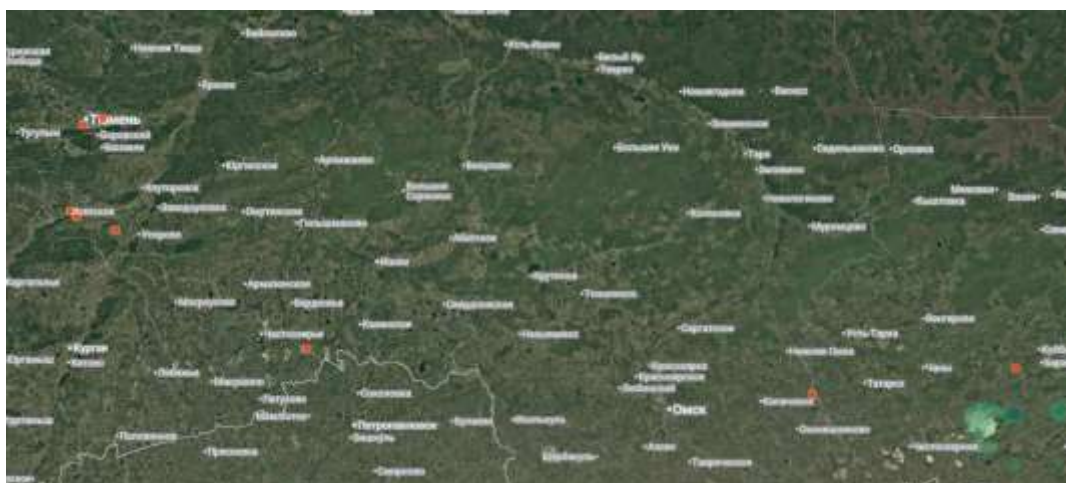
СПИСОК ИСТОЧНИКОВ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Zhang H., Li Y., Wang H., Muhetaer H., Ma J., Liu W., ... [и др.]. Insight into endophytic microbial diversity in two halophytes and plant beneficial attributes of *Bacillus swiezeyi* // *Frontiers in Microbiology*. – 2024. – Vol. 15. – Art. 1447755. – DOI: 10.3389/fmicb.2024.1447755. – URL: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2024.1447755/full> (дата обращения: 17.01.2026).
2. Дмитренко Г. И., Плотников Р. С., Саранчин Е. П. Использование ризосферных и эндофитных галофильных бактерий в качестве механизма адаптации культурных растений к засоленным почвам // *Препринты*. – 2023. – DOI: 10.24108/preprints-3114207. – URL: <https://doi.org/10.24108/preprints-3114207> (дата обращения: 10.01.2026).
3. *Астра солончаковая паннонская (Tripolium pannonicum)* : [веб-сайт] // iNaturalist. – URL: https://www.inaturalist.org/observations?subview=map&taxon_id=170020 (дата обращения: 17.01.2026).
4. *Tripolium pannonicum* (Jacq.) Dobrocz. : [веб-сайт] // Flora of China @ efloras.org. – URL: http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=250097856 (дата обращения: 02.01.2026).
5. Szymańska S., Płociniczak T., Piotrowska-Seget Z., Złoch M., Ruppel S., Hryniewicz K. Metabolic potential and community structure of endophytic and rhizosphere bacteria associated with the roots of the halophyte *Aster tripolium* L. // *Microbiological Research*. – 2016. – Vol. 182. – P. 68–79. – DOI: 10.1016/j.micres.2015.09.007. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26686615/> (дата обращения: 02.01.2026).
6. Суярова Р. А., Кондрашева К. В., Новицкий З. Б., Гулямова Т. Г. Галотолерантность и ферментативная активность эндофитов из семян солеустойчивых растений // *Universum: химия и биология*. – 2023. – № 12(114). – С. 10–15. – DOI: 10.32743/UniChem.2023.114.12.16342.

7. Kearl J., McNary C., Lowman J. S., Mei C., Aanderud Z. T., Smith S. T., West J., Colton E., Hamson M., Nielsen B. L. Salt-Tolerant Halophyte Rhizosphere Bacteria Stimulate Growth of Alfalfa in Salty Soil // *Frontiers in Microbiology*. – 2019. – Vol. 10. – Art. 1849. – DOI: 10.3389/fmicb.2019.01849. – URL: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01849> (дата обращения: 17.10.2025).
8. Аликулов Б. С. Механизмы снижения солевого стресса у растений при помощи солеустойчивых бактерий, выделенных из галофитов // *Научное обозрение. Биологические науки*. – 2023. – № 1. – С. 98–104.
9. Orhan F. Potential of halophilic and halotolerant bacteria in accelerating mineralization and improving nitrogen fertilizer efficiency // *Brazilian Journal of Microbiology*. – 2016. – Vol. 47, № 4. – P. 810–814. – DOI: 10.1016/j.bjm.2016.04.001.
10. *Астра солончаковая паннонская. Наблюдения в проекте «Tyumen-oblast-flora»*: [веб-сайт] // iNaturalist. – URL: https://www.inaturalist.org/observations?project_id=tyumen-oblast-flora&subview=map&taxon_id=170020&verifiable=any (дата обращения: 10.01.2026).
11. Глазунов В. А., Науменко Н. И., Хозяинова Н. В. Определитель сосудистых растений Тюменской области. – Тюмень : ООО «РГ «Проспект», 2017. – 744 с.
12. Нетрусов А. И., Егорова М. А., Захарчук Л. М. [и др.]. Практикум по микробиологии : учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.
13. Кожемяков, А. П. Биологическая защита растений: создание и применение микробных препаратов / А. П. Кожемяков, Ю. М. Стрелков, Н. И. Лаврова ; под ред. А. П. Кожемякова. – Москва : Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, 2013. – 378 с. – ISBN 978-5-901455-27-2.
14. Evrogen. Official website: whole-genome sequencing service description [Электронный ресурс]. URL: <https://evrogen.ru/services/sequencing/> (дата обращения: 25.10.2025).
15. Серебренников Т. С., Саранчина Н. В., Саранчин Е. П. Химия солончаковых почв Тюменской области // *Preprints.ru*. – 2024. – DOI: 10.24108/preprints-3113244.
16. Sayahi N., Sportelli G., Carluccio A.V., Ebel C., Mechichi T., Cillo F., Hanin M., Stavolone L. The Serratia sp. strain C2 confers tomato tolerance to high salt, virus infection and both stresses in combination // *Current Plant Biology*. — 2024. — Vol. 40. — P. 100390. — DOI: 10.1016/j.cpb.2024.100390.
17. Novello G., Gamalero E., Massa N., Cesaro P., Lingua G., Todeschini V., Caramaschi A., Favero F., Corà D., Manfredi M., Marengo E., Pelagi M., Pangaro L., Caffiero G., Milano F., Bona E. Proteome and Physiological Characterization of Halotolerant Nodule Endophytes: The Case of *Rahnella aquatilis* and *Serratia plymuthica* // *Microorganisms*. — 2022. — Vol. 10, № 5. — P. 890. — DOI: 10.3390/microorganisms10050890.

Приложение 1

География поиска Астры паннонской в 2025 году

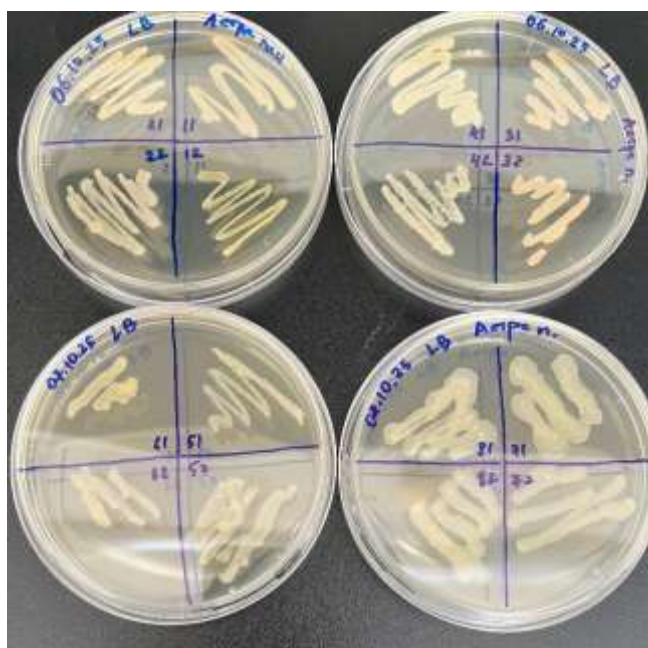


Приложение 2

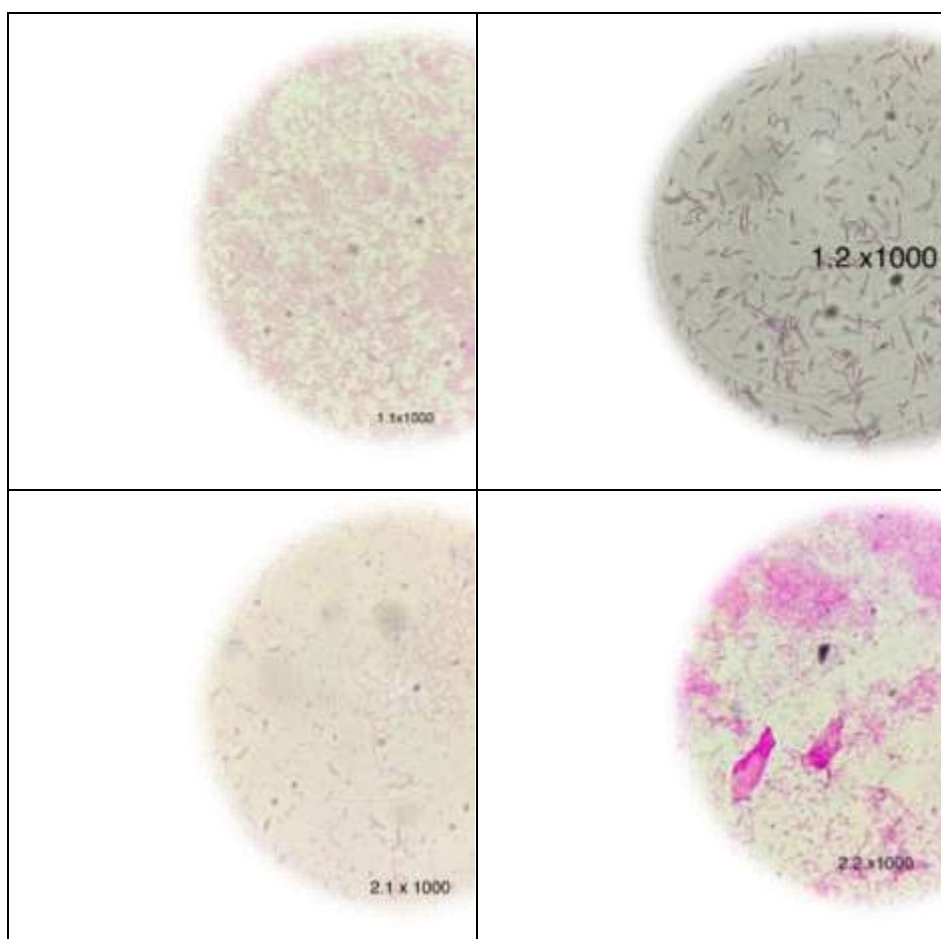
Рост эндофитных бактерий из фрагментов Астры паннонской

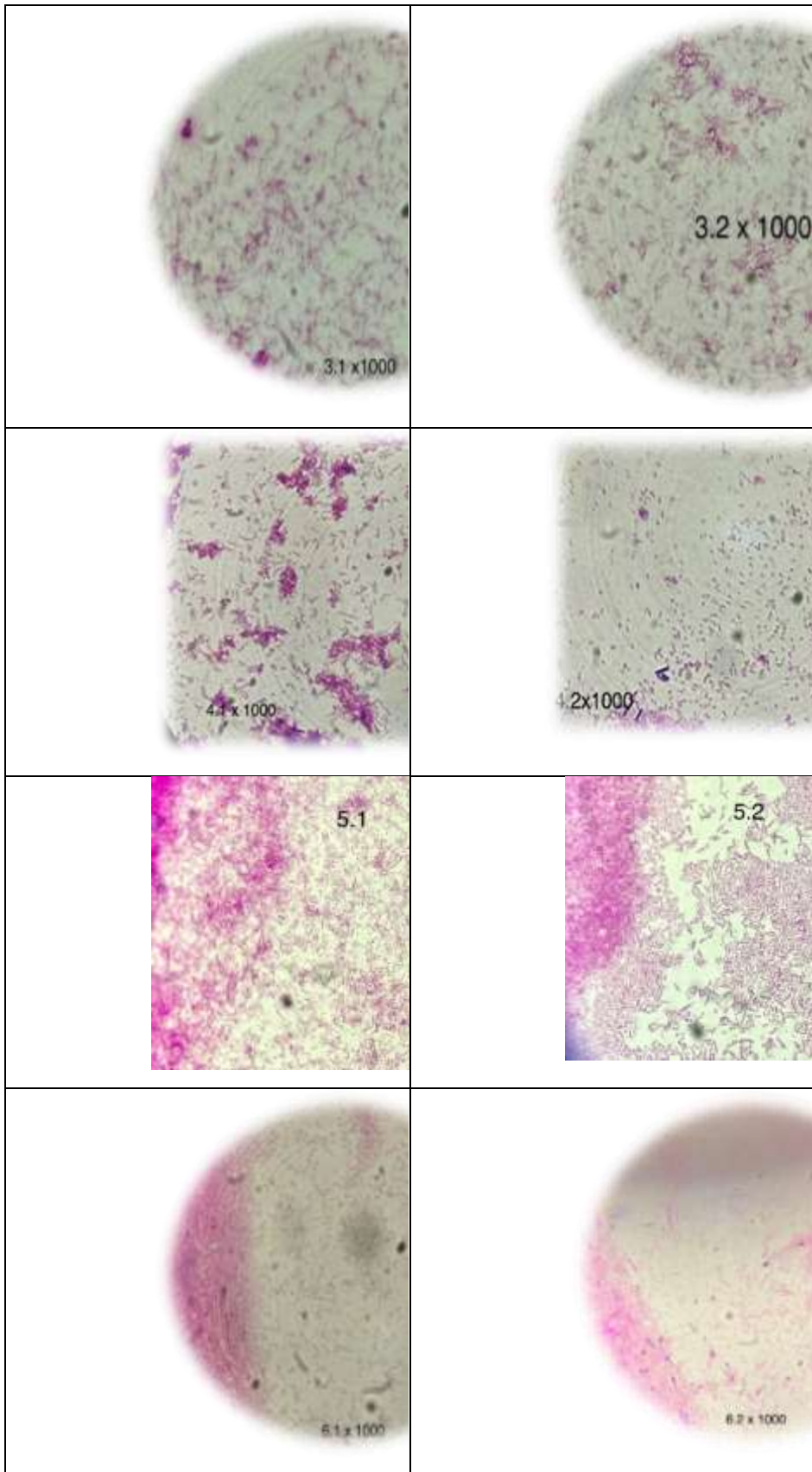


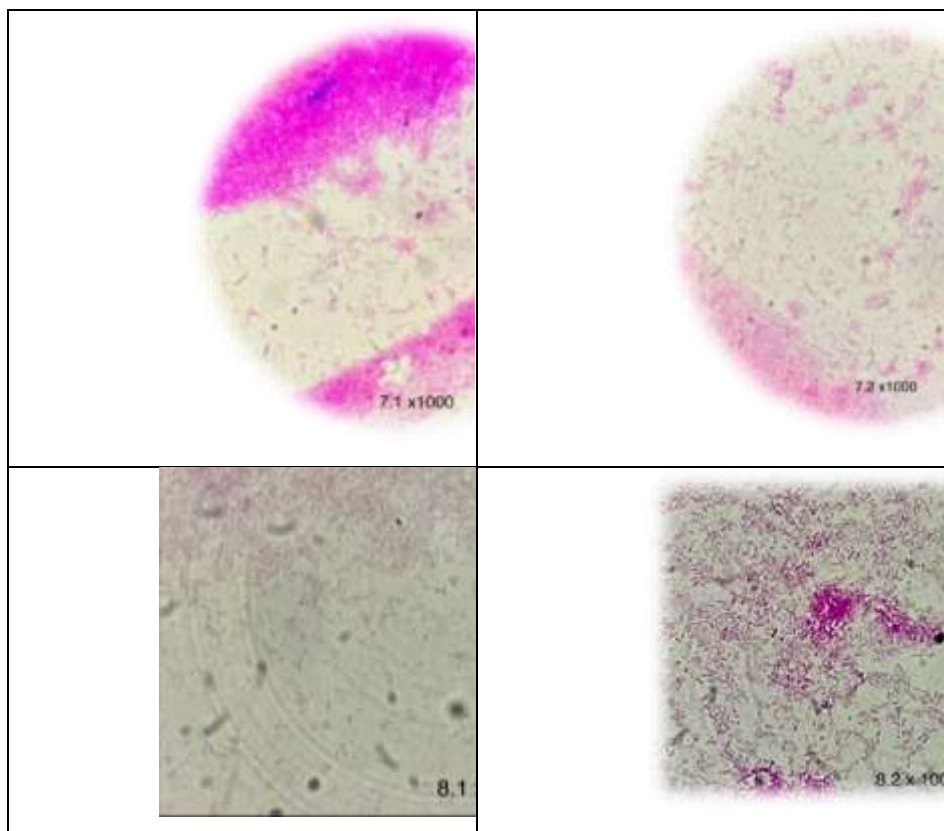
Изоляты эндофитных бактерий из Астры паннонской



Микрофотографии полученных штаммов эндофитных бактерий







Приложение 5

Опыт с семенами подсолнечника и пятью бактериальными штаммами

