

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

Кафедра микробиологии и физиологии растений

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 2 курса 241 группы

Направление подготовки магистратуры 06.04.01 Биология

Биологического факультета

Стародуб Александры Александровны

Тема работы: **«МИКРОБНЫЕ АССОЦИАЦИИ СКЕЛЕТНЫХ ЧАСТЕЙ
АБРИКОСОВ (*PRUNUS ARMENIACA L.1735*) ПРИ ИХ УСЫХАНИИ
НА ТЕРРИТОРИИ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ»**

Научный руководитель:

доцент, канд. биол. наук

А.М. Петерсон

Зав. кафедрой:

профессор, док. биол. наук

С.А. Степанов

Саратов 2021

Введение

Актуальность темы. Абрикосы активно культивируются во всех южных регионах европейской части России. В Нижнем Поволжье в промышленных масштабах абрикосы выращивают в Волгоградской и частично в Астраханской областях. В Саратовской области абрикосы культивируются преимущественно в частных хозяйствах.

Мякоть плодов абрикосов содержит от 4,7 до 27 % сахара, пектиновые вещества, яблочную, лимонную и винную органические кислоты, дубильные вещества, значительное количество аскорбиновой кислоты, витамины В₁, В₂, В₁₅, Р, РР, много каротина, минеральные соли, поэтому абрикосы являются важным компонентом питания человека [1].

Одной из важнейших причин потери урожайности деревьев абрикосов является поражение вирусными, грибными и бактериальными патогенами. Наибольший урон абрикосам наносят грибковые заболевания, вызывающие различные поражения скелетных частей деревьев.

На территории Саратовской области гибель абрикосов наиболее часто происходит в результате микозного усыхания, сопровождающегося растрескиванием и почернением коры. По литературным данным схожие патологии могут вызывать грибы родов *Fusarium* и *Rhizopus* [2]. Однако микробиологических исследований скелетных частей абрикосов с данными патологиями на территории области ранее никогда не проводилось.

В связи с этим целью данной работы явилось изучение микробной ассоциации скелетных частей абрикосов с признаками микозного усыхания на территории Саратовской области.

Цель и задачи исследования. Для реализации указанной цели были поставлены и решены следующие задачи:

1. Сравнить микробные ассоциации поверхности скелетных частей здоровых и поражённых микозами абрикосов.
2. Выявить виды, доминирующие на поверхности поражённых деревьев, произрастающих в разных районах Саратовской области.

3. Выявить степень стабильности исследуемых микробных ассоциаций в разные вегетационные сезоны.

4. Сравнить выявленные микокомплексы скелетных частей абрикосов с литературными данными по микокомплексам яблонь со схожими признаками микозного усыхания.

Материал и методы исследования. Материалом для микробиологических исследований послужила поражённая кора абрикосов с признаками микозного усыхания из частных приусадебных хозяйств Саратовской области и кора абрикосов без каких-либо патологий из тех же агроценозов. Возраст деревьев от 10 до 15 лет.

Было исследовано 10 здоровых деревьев из Калининского района и 10 из Энгельсского района Саратовской области и по 10 поражённых деревьев из Калининского, Лысогорского, Саратовского, Пугачевского, Мокроусовского и Энгельсского районов. Работа проводилась на базе кафедры микробиологии и физиологии растений Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского.

Из пробы коры вырезали фрагмент 2×2 см и методом отпечатка засекали на среду КС (картофель – 200 г, агар-агар – 20 г, вода – 1 л) для выделения микроорганизмов, ассоциированных с деревом абрикоса, и среду PDA (картофель – 200 г, агар-агар – 15 г, глюкоза – 20 г, вода – 1 л) для выделения фитопатогенных грибов.

Посевы на КС культивировали в течение 2-3-х суток при $+28^{\circ}\text{C}$, посевы на PDA – в течение 5-7 суток при $+28^{\circ}\text{C}$. Затем проводили количественный учёт ассоциантов и отсеивали чистых культур.

Для идентификации выделенных штаммов бактерий изучали морфологические, культуральные, биохимические свойства изолятов. При изучении биохимической активности выделенных штаммов определяли наличие у них каталазы и оксидазы, выявляли их способность использовать различные сахара (глюкозу, сахарозу, маннит, лактозу, арабинозу, маннозу),

цитрат, способность к гидролизу желатины, казеина, продукции сероводорода и аммиака, способность к редукции нитратов.

Видовую принадлежность бактерий определяли с помощью определителя бактерий Берджи [3].

Для идентификации выделенных грибов изучали их морфологические и культуральные свойства. Видовую принадлежность грибов устанавливали с помощью определителей [4, 5].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы STATISTICA 10.

Структура и объём работы. Работа изложена на 57 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников. Работа проиллюстрирована 5 таблицами и 19 рисунками. Список использованных источников включает 56 наименований.

Научная новизна. Впервые проведены микробиологические исследования скелетных частей деревьев абрикоса с признаками микозного усыхания на территории Саратовской области.

Научная значимость. Полученные данные существенно расширяют представления о микробных ассоциациях скелетных частей косточковых культур при их усыханиях, служат теоретической основой для разработки методов борьбы с этими патологиями растений..

Положения, выносимые на защиту:

1. Поверхность коры деревьев абрикоса заселена специфической ассоциацией бактерий и грибов. У здоровых деревьев в этой ассоциации преобладают бактериальные виды, у деревьев с признаками усыхания – плесневые грибы.
2. Основными возбудителями усыхания скелетных частей абрикосов на территории Саратовской области являются грибы родов *Fusarium*, *Alternaria* и *Rhizopus*.

Основное содержание работы. В ходе проведения микробиологических исследований 10 здоровых и 10 пораженных деревьев из Калининского района и 10 из Энгельсского района Саратовской области. Основным

выявленным отличием микрофлоры больных и здоровых деревьев оказалось увеличение доли грибных ассоциантов на поверхности усыхающих деревьев и одновременное уменьшение доли неспорообразующих бактерий. Существенное увеличение количества грибов на коре поражённых деревьев было хорошо заметно уже на первичных посевах.

Так, в Калининском районе количество спорообразующих и неспорообразующих бактерий на поражённых деревьях уменьшилось по сравнению с их количеством на здоровых деревьях.

В Энгельском районе количество спорообразующих бактерий на здоровых и поражённых деревьях оказалось одинаковым. Количество неспорообразующих бактерий на поражённых деревьях Энгельского района было в 2 раза меньше, чем на здоровых. Количество грибов на поражённых деревьях увеличилось в 2 раза в Калининском районе и в 3 раза в Энгельском районе

Анализируя бактериальную составляющую микробной ассоциации следует отметить, что часть видов встречались и на здоровых, и на поражённых деревьях, часть были изолированы только с поражённых побегов, часть – только со здоровых. Всего было выделено 66 штаммов. Определенно 9 видов бактерий и 6 родов грибов

В Калининском и Энгельском районах на поражённых побегах абрикосов явного грибного доминанта также обнаружено не было.

В связи с тем, что на предыдущем этапе работы не было выявлено единого возбудителя микозных усыханий абрикосов, нами были исследованы абрикосы с аналогичными патологиями ещё из 4 районов Саратовской области. Установлено, что микробные ассоциации коры абрикосов с одинаковыми поражениями могут очень сильно различаться. Так, индексы общности их видового состава варьировали от 13,3% до 50%.

Наиболее высокие количественные показатели на поверхности поражённых деревьев абрикоса в Энгельском районе были характерны для *M. luteus* (до 10^3 КОЕ/см²), в Мокроусовском районе – для *B. halophilus* (до 10^3

КОЕ/см²), *B. smithii* (до 10³ КОЕ/см²), *S. cvihni* (до 10³ КОЕ/см²). В Калининском районе у бактерий видов *B. gibsonii*, *B. smithii*, *E. stewartii* были отмечены наиболее высокие количественные показатели на поверхности деревьев с патологиями (до 10³ КОЕ/см²). В Саратовском районе наиболее высокие количественные показатели были у бактерий видов *B. gibsonii*, *B. simplex* (до 10³ КОЕ/см²). В Пугачевском и Лысогорском районах ни один из выделенных видов не достигал высоких количественных показателей.

Наиболее высокие количественные показатели на поверхности пораженных деревьев абрикоса среди фитопатогенных грибов, оказалось только в Калининском районе у гриба рода *Fusarium* (до 10³КОЕ/см²).

Таким образом, среди бактериальной составляющей микробной ассоциации поражённых деревьев обращают на себя внимание 4 вида бацилл (*B. circulons*, *B. gibsonii*, *B. simplex*, *B. smithii*), которые изолировались во всех исследованных районах. Причём два из них ранее встречались и на здоровых деревьях, что позволяет говорить о них как о типичных ассоциантах коры абрикоса. 2 других вида рода *Bacillus* не выделялись ранее со здоровых растений. Однако по литературным данным они являются обычными обитателями окружающей среды и не вызывают патологий у растений [6,7,8].

Анализируя видовой состав грибов, выделенных с поверхности пораженных деревьев, следует отметить, что ни в одном районе не было выявлено какого-либо одного грибного доминанта. Как правило, в одном и том же агроценозе выделялось сразу несколько таксонов грибов, которые потенциально могут вызвать подобные поражения. Это грибы родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fusarium*.

Мы проанализировали частоту выделения грибов этих родов на поверхности коры абрикосов на территории Саратовской области .

Оказалось, что в 40% проб данная патология вызывается грибами рода *Fusarium*, в 24% - рода *Alternaria* и в 16% - рода *Rhizopus*. Вместе с тем, в наших исследованиях было определённое количество проб, в которых какие-либо фитопатогенные грибы отсутствовали. Интересен и тот факт, что на

поверхности поражённых абрикосов часто присутствуют грибы рода *Triходerma*, которые широко известны своей антагонистической активностью, однако в наших исследованиях этот гриб часто выделялся совместно с фитопатогенными представителями Fungi и не проявлял по отношению к ним фунгистатической активности.

На следующем этапе работы было необходимо выяснить, насколько стабильны выявленные микробные ассоциации в разные вегетационные сезоны. Для этого в 2020 г. Было проведено повторное микробиологическое исследование тех же поражённых деревьев абрикоса из Энгельсского района, которые уже были исследованы нами в 2019 году.

В Энгельсском районе в 2019 году на поражённых побегах абрикосов максимальную встречаемость имели бактерии *Bacillus circulons* (71%), *B. gibsonii* (71%), *B. simplex* (57%), *B. smithii* (57%), *S. saprophyticus* (50%). В 2020 году максимальную встречаемость имели бактерии *Bacillus circulons* (70%), *B. smithii* (80%).

В 2019 году в Энгельсском районе наиболее высокие показатели были у бактерий *B. gibsonii* (до 10^2 КОЕ/см²), *B. simplex* (до 10^2 КОЕ/см²), *B. smithii* (до 10^2 КОЕ/см²), *Micrococcus luteus* (до 10^3 КОЕ/см²). В 2020 году наиболее высокие показатели были у бактерий *Bacillus circulons* (до 10^2 КОЕ/см²), *B. smithii* (до 10^3 КОЕ/см²).

Среди грибных ассоциаций в 2019 году наиболее высокие показатели были у *Alternaria sp.* (до 10^2 КОЕ/см²), в 2020 году наиболее высокие показатели были у родов *Alternaria* (до 10^2 КОЕ/см²) и *Fusarium* (до 10^2 КОЕ/см²).

В Энгельсском районе на поражённых побегах абрикосов явных бактериальных и грибных доминантов в 2019 и в 2020 году выявлено не было.

В ходе проведения исследований было отмечено, что признаки микозного усыхания скелетных частей деревьев очень схожи у абрикосов и яблонь. Ранее уже были проведены микробиологические исследования

скелетных частей яблонь с аналогичной симптоматикой, произрастающих в тех же агроценозах, что и исследованные нами деревья абрикоса [7,8]. Поэтому у нас оказалась возможность сравнить видовой состав грибов-доминантов скелетных частей абрикосов и яблонь со схожими патологиями и произрастающих в одних и тех же агроценозах.

Грибами, массово встречающимися на поражённых побегах обоих видов растений, оказались представители родов *Alternaria* и *Fusarium*. *Alternaria sp.* была основным возбудителем микозного усыхания побегов яблонь, а на абрикосах встречался значительно реже. Представители рода *Fusarium* часто встречались и на яблонях, и на абрикосах, но нигде не являлись единственным доминантом.

Отличием микробной ассоциации поражённых абрикосов было присутствие на них фитопатогенных грибов рода *Rhizopus*, которые не изолировались с побегов яблонь.

ВЫВОДЫ

1. Индексы общности видового состава микроорганизмов поверхности коры здоровых и поражённых абрикосов в разных районах области составили 25-26 %. Наиболее важным отличием микробной ассоциации поражённой коры было увеличение количества грибов родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Trichoderma* на её поверхности.

2. Наиболее типичными бактериальными ассоциантами поражённой коры абрикосов на всей территории Саратовской области являются бактерии *Bacillus gibsoni* (встречаемость 56,7%), *B. circulans* (55,0%), *B. smithii* (50,0%) и *B. simplex* (48,4%).

3. Ни один из выделенных родов фитопатогенных грибов не встречался во всех исследованных районах, что говорит о способности разных видов грибов вызывать схожие патологии у деревьев абрикосов. Встречаемость на поверхности коры поражённых абрикосов фитопатогенных грибов рода *Alternaria* составила 31,7%, *Fusarium* – 51,7%, *Rhizopus* – 21,7%.

4. Индекс общности видового состава микробных ассоциаций поражённых скелетных частей абрикосов в вегетационные сезоны 2019-2020 годов составил 40%. Наиболее стабильными компонентами микробных ассоциаций оказались *Bacillus circulans*, *B. gibsonii*, *B. smithii*, *Erwinia stewartii*, *Alternaria* sp.

5. При сравнении выявленного нами микокомплекса поражённых абрикосов и имеющихся литературных данных по микокомплексам яблонь с аналогичными поражениями оказалось, что на обоих видах деревьев наиболее часто присутствовали грибы родов *Alternaria* (встречаемость 31,7 и 100% соответственно) и *Fusarium* (51,7% и 62,9). На коре поражённых абрикосов присутствовали также фитопатогенные грибы рода *Rhizopus*, которые не изолировались с поражённых побегов яблонь.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Энциклопедия. Абрикос. [электронный ресурс] URL: <http://www.km.ru/zdorove/encyclopedia/abrikos> (Дата обращения: 13.05.2020)
- 2 Дементьева, М.И. Фитопатология.- 3-е изд., перераб. и доп./ М.И. Дементьева. - М.: Агропромиздат, 1985. – 397с.
- 3 Определитель бактерий Берджи: в 2-х т. Т. 1. / Под ред. Дж. Хоулта и др. – М.: Мир, 1997. – Т.1. – 432 с.
- 4 Определитель бактерий Берджи: в 2-х т. Т. 2. / Под ред. Дж. Хоулта и др. – М.: Мир, 1997. – Т.2. – 368 с.
- 5 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology – New York: Springer, 2007. –: Vol. 2. –1136 p.
- 6 Simmons, E. G. *Alternaria* – an identification manual / E. G. Simmons // CBS Biodiversity Series. - 2007. - Vol.56, №7 – P. 775.
- 7 Мохамед, Х.А. Особенности микробных ассоциаций скелетных частей яблонь (*Malus domestica* Borkh., 1803) при микозных усыханиях на территории Саратовской области: автореф. дис...канд. биол. наук/ Х.А. Мохамед. - Саратов, 2017. – 22 с.

8 Simmons, E. G. *Alternaria* – an identification manual / E. G. Simmons //
CBS Biodiversity Series. - 2007. - Vol.56, №7 – P. 775.