

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

**ЭПИФИТИНАЯ МИКРОБИОТА
СЛИВЫ ДОМАШНЕЙ (PRUNUS DOMESTICA L., 1753)
НА ТЕРРИТОРИИ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ
И ВЛИЯНИЕ НА НЕЁ ХИМИЧЕСКИХ ИНСЕКТИЦИДОВ**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 3 курса 331 группы

направления подготовки магистратуры 06.04.01 Биология

биологического факультета

Тимашовой Анастасии Александровны

Научный руководитель:

канд. биол. наук, доцент

А. М. Петерсон

26.11.2025.

Зав. кафедрой:

док. биол. наук, доцент

Д. В. Уткин

26.11.2025.

Саратов 2025

Введение

Актуальность темы. Слива домашняя – растение южного и центрального региона, занимающая третье место по выращиванию среди плодовых культур, уступая лишь яблоне и вишне. Объёмы сбора сливы и других косточковых культур (абрикос, персик, вишня, черешня) в период с 2014 года по 2019 год выросли на 20,8 %. В Саратовской области ее в основном выращивают в приусадебных садах. В настоящее время численность сливовых деревьев в специализированных хозяйствах и садах сокращается. Безусловно, на сокращение оказывают влияние такие факторы, как высокая (в летний период) и низкая (в зимний период) температура, засуха [1]. Колossalный ущерб наносят деревьям и насекомые-вредители. Например, майский жук (*Melolontha pectoralis* M., 1812), обедает листья, а его личинки вредят корням молодых саженцев; плодовая моль и сливовая плодожорка (*Yponomeuta padella* G., 1753 и *Grapholita funebrana* T., 1835) вызывают скелетирование листьев и гниение плодов; сливовые пилильщики (*Hoplocampa fulvicornis* P., 1801 и *H. flava* L., 1761), повреждают цветки и плоды [2]. Вследствие этого в сельском хозяйстве используют различные инсектициды химического происхождения для защиты деревьев сливы [3]. Однако их применение может не только защитить растения от насекомых-вредителей, но и нанести вред микробиоте обрабатываемых побегов. Некоторые компоненты инсектицидов могут нарушать механизм синтеза ферментов, вызывать замедление, а в некоторых случаях и остановку клеточного метаболизма [4]. В результате растения лишаются полноценной микробиоты и становятся более восприимчивыми к фитопатогенным бактериям и грибам.

Микрофлора сливы домашней и близких ей видов изучалась в Краснодаре, Ставрополе, республике Адыгея, Узбекистане [5, 6, 7, 8]. На территории Саратовской области аналогичные исследования не проводились.

В связи с этим, целью данной работы стал анализ особенностей эпифитной микробиоты сливы домашней (*Prunus domestica* L., 1753) на

территории Саратовской области и её устойчивости к действию химических инсектицидов.

Для реализации указанной цели были поставлены и решены следующие задачи:

1. Выявить качественный и количественный состав эпифитной микробиоты сливы в условиях Саратовской области.
2. Установить пищевые потребности бактерий-доминантов.
3. Проследить сезонную динамику качественных и количественных характеристик микробиоты.
4. Выявить сортоспецифичность микробиоты сливы домашней.
5. Определить влияние химических инсектицидов на микробиоту сливы в условиях *in vitro* и *in vivo*.
6. Выявить химические инсектициды, наносящие минимальный вред нормальной микробиоте этой культуры.

Материал и методы исследования. Работа проводилась в 2022-2025 гг. на базе кафедры микробиологии и физиологии растений Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского.

Объектом исследования послужили побеги сливы домашней.

На основании данных научных статей, а также интернет-ресурсов были отобраны инсектициды, наиболее широко применяемые для обработки сливы от насекомых-вредителей: Кинмикс, Алатар, Фуфанон-нова, Би-58, Биокилл, Танрек.

Фрагмент листовой пластинки размером 2x2 см засевали отпечатком на картофельную среду (картофель – 200 г, агар-агар – 15 г, вода – 1 л) для выделения бактерий и среду PDA (картофель – 200 г, агар-агар – 15 г, глюкоза – 20 г, вода – 1 л) для выделения грибов.

Для выделения микроорганизмов с внутренних тканей растения брали участок листовой пластинки, обрабатывали 70%-ным спиртом, затем промывали в физиологическом растворе и 0,1 г обработанной листовой

пластинки гомогенизировали с 0,9 мл стерильного физиологического раствора. По 0,1 мл гомогенизата высевали на картофельную среду и на среду PDA.

Все посевы инкубировали при температуре +28 °C в течении 2 (картофельная среда) и 7 (PDA) суток, затем проводили количественный учет выделенных микроорганизмов, а также отсев их на скошенные питательные среды для последующей идентификации.

Идентификацию бактерий проводили с помощью определителей Берги и программы ABIS. Для идентификации грибов использовали определители Д. Саттона и Е.Ю. Благовещенской.

Для выявления устойчивости микробиоты листьев сливы домашней к действию инсектицидов в условиях *in vitro* в подготовленные чашки Петри помещали листовые пластинки сливы и смачивали их растворами инсектицидов, приготовленными согласно инструкциям производителей. Контрольные образцы обрабатывали стерильной водой. Эксперимент осуществляли при комнатной температуре (+24-27°C). Через 2 и 7 дней после обработки производили посев листовых пластинок на питательные среды (КС и PDA) методом отпечатка. Культивировали при +28° C. Затем проводили количественный учёт ассоциантов.

Для выявления устойчивости микробиоты листьев сливы домашней к действию инсектицидов в условиях *in vivo* растения, которые до этого ничем не обрабатывались, опрыскивали препаратами в утренние часы. Контрольные растения обработке не подвергались. Спустя неделю после обработки производили посев листовых пластинок на питательные среды (КС и PDA) методом отпечатка и количественный учёт ассоциантов.

Структура и объём работы. Работа изложена на 62 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников. Работа проиллюстрирована 18 таблицами и 21 рисунком. Список использованных источников включает 64 наименования.

Научная новизна. Впервые рассмотрена эпифитная микробиота сливы домашней (*Prunus domestica* L., 1953) Впервые выявлены пищевые потребности бактерий-ассоциантов сливы. Впервые изучено влияние химических инсектицидов на эпифитную микробиоту сливы домашней в различных условиях. Впервые рассмотрено наличие у сливы сортоспецифичности микробиоты.

Теоретическая и практическая значимость. Расширены представления об эпифитной микробиоте сливы домашней, а также о влиянии на неё химических инсектицидов. Полученные данные помогут более эффективно осуществлять обработку деревьев от насекомых с наименьшим вредом для микробиоты растения.

Положения, выносимые на защиту:

1. Эпифитная микробиота сливы домашней имеет особый качественный и количественный состав, которая обладает определённой сортоспецифичностью.

2. Химические инсектициды могут оказывать не только положительное, но и отрицательное влияние на эпифитную микробиоту сливы.

Основное содержание работы

В главе «Обзор литературы» представлена информация о систематическом положении сливы домашней, её ботаническом описании, особенностях культивирования, основных болезнях и вредителях. Также представлена информация о инсектицидах, используемых для сливы, и эпифитной микрофлоре и её роли в колонизационной резистентности.

В главе «Результаты исследования» представлены результаты экспериментов по выделению микробиоты с побегов сливы домашней и по влиянию на неё химических инсектицидов.

С поверхности побегов сливы в Саратовской области было изолировано 59 штаммов бактерий 9 видов и 50 штаммов грибов 15 видов.

С поверхности побегов сливы в Саратовской области было изолировано 59 штаммов бактерий 9 видов (*Bacillus bataviensis*, *B. haladurans*, *B. megaterium*, *B. soli*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *Cellulomonas cellulans*, *Lactococcus plantarum*, *Paenibacillus alvei*) и 50 штаммов грибов 15 видов (*Alternaria alternate*, *Aphanocladium album*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *Exophiala jeanselmei* var *jeanselmei*, *Fusarium chlamysosporum*, *F. dimerum*, *F. oxysporum*, *Penicillium citrinum*, *P. chrysogenum*, *Rhizopus arrhirus*, *Ulocladium conidiophores*).

В составе эпифитной микробиоты сливы доминировали грибы, в то время как эндофитная микробиота этих же побегов включала лишь бактерий

Бактериальная составляющая эпифитной микробиоты сливы в основном была представлена родом *Bacillus*. Рода *Paenibacillus*, *Cellulomonas*, *Lactococcus* были представлены единичными видами. Бактериальная биота внутренней среды побегов была значительно беднее и включала такие виды как *B. subtilis*, *B. soli* и *P. alvei*.

Бактериальная микробиота, выделенная с поверхности побегов сливы домашней, представлена бактериями, относящимися к филумам *Actinomycetota* и *Firmicutes*. Большинство видов принадлежат классу *Bacilli*, в то время как один из изолированных видов (*C. cellulans*) относится к классу *Actinomycetia*. В нормальной микрофлоре сливы домашней преобладают бактерии, относящиеся к семейству *Bacillaceae*.

Грибная микробиота наружной поверхности побегов сливы оказалась очень разнообразна. Наиболее широко были представлены рода *Aspergillus* и *Fusarium* (по 3 вида).

Выделенные виды относятся к двум филумам: *Ascomycota*, к которому принадлежат 14 из 15 изолированных видов, и *Mucoromycota* (*R. arrhirus*). В микробиоте сливы домашней на территории Саратовской области преобладают грибы, относящиеся к классам *Eurotiomycetes* и *Sordariomycetes*.

К классам Chaetothyriomycetes и Zygomycetes относятся *E. jeanselmei var jeanselmei* и *R. arrhirus* соответственно. Наибольшее количество изолированных штаммов принадлежит семействам Trichocomaceae и Nectriaceae.

В отобранных пробах сливы домашней наиболее часто встречались грибы *A. alternate* (47 %), *R. arrhirus* (17 %), *U. Conidiophores* (17 %). Количественные показатели были также наиболее высокими ($10\text{-}10^3$ КОЕ/см²). Данные грибы вызывают альтернариозы, фузариозы, гнили и пятнистости растений.

Для проникновения в растительный организм бактерии должны иметь комплекс ферментов: гликозил-гидролазы, полисахарид-лиазы, углевод-эстеразы. Мы исследовали способность наших микроорганизмов синтезировать целлюлазы и пектиназы. Целлюлазы бактерий представляет собой ферментный комплекс, под действием которого целлюлоза разлагается до 2 молекул глюкозы. Пектиназы разрушают связи между составляющими пектина с образованием D-галактуроновой кислоты [9].

В результате проведённых исследований было выявлено, что целлюлитической активностью обладает 75 % выделенных штаммов, а пектолитической – 50 % штаммов.

Кроме того, пектолитическая активность бактериальной биоты была исследована на стандартных тест-объектах: использовались клубни картофеля, корнеплоды свёклы, редиса, моркови и листья капусты.

По результатам проведённого опыта было обнаружено, что штаммы 7 и 33 не проявили пектолитической активности, а штаммы 3 и 17 проявили пектолитическую активность на каждой из тест-культур. *B. subtilis* 26 и *C. cellulans* 2 проявили пектолитическую активность на редисе, картофеле и свёкле.

Таким образом, наибольшая пектолитическая активность была проявлена на культурах картофеля, редиса и свёклы (67 %), 33 % исследуемых штаммов проявили активность на капусте и моркови.

Было проведено исследование на выявление токсичности продуктов метаболизма исследуемых штаммов бактерий для однодольных (пшеница) и двудольных (редис) растений.

По результатам проведённого исследования обнаружено, что наибольшей фитотоксичностью обладал штамм *B. bataviensis* 7, наименьшей фитотоксичностью из исследуемых штаммов – *B. soli* 3.

Таким образом, наши исследования свидетельствуют о потенциальной фитопатогенности сапроптических штаммов бактерий, изолированных с побегов сливы домашней.

Наиболее востребованными источниками азота оказались белки (желатин), пептон и соли аммония, которые использовали все штаммы. Нитраты метаболизировали 75 % штаммов. 50 % исследуемых штаммов были способны использовать атмосферный азот.

Сахаролитическая активность штаммов была значительно выше. Это может быть связано с тем, что на поверхности побегов сливы часто присутствуют колонии тлей, выделяющих сахаристые пади, которые могут служить источником углерода для эпифитной микробиоты [10]. 100 % штаммов были способны использовать в качестве источника углерода глюкозу, 71 % использовали сахарозу, штаммы 2, 7, 33 – маннит, сорбит и мальтозу. Все исследуемые штаммы не использовали в качестве источника углерода лактозу и арабинозу.

Среди бактерий в течение трёх сезонов встречались виды *B. subtilis* (индексы встречаемости в пробах от 98 до 100 %), *L. plantarum* и *C. cellulans* (индексы встречаемости в пробах от 8 до 40 %). *B. soli*, *B. bataviensis*, *B. halodurans* встречались только весной, *P. alvei* присутствовал почти во всех весенних и летних пробах, однако осенью данный вид не выделялся.

A. alternata является самым часто встречаемым грибом на поверхности сливы домашней, данный вид присутствовал в каждом сезонном исследовании в 40-100 % проб. *C. cladosporioides* также встречался весной, летом и осенью и

присутствовал в 19-100 % проб, причём численность этого вида существенно увеличивалась к осени.

В начале вегетационного сезона на деревьях всех сортов преобладали бактерии *B. subtilis*, и *B. megaterium*. Данные виды бактерий оказывают на растение положительное влияние: *B. subtilis* участвует в защите растения от патогенов благодаря синтезу антибиотиков и ферментов для разрушения клеточной стенки фитопатогенных грибов; *B. megaterium* мобилизует фосфор, что делает его более доступным как для самого растения, так и для других представителей нормальной биоты сливы домашней.

К концу вегетативного сезона единых доминантов уже не наблюдалось. Схожие доминанты были выявлены у деревьев сортов Богатырская, Вижен и Жёлтая крупная. У остальных сортов явные бактериальные доминанты отсутствовали.

Кластерный анализ индекса встречаемости различных видов бактерий на побегах сливы разных сортов показал, что наиболее близки микробиомы сортов Богатырская и Вижен, Волжская красавица и Гармония. Высокой специфичностью обладала микробиота сорта Конфетная. Выявленные особенности микробиоты могут быть связаны с различиями химического состава клеточного сока, анатомического строения покровных тканей листовых пластинок, особенностями летучих веществ, выделяющихся через устьица.

Грибы в начале вегетационного периода на сливе встречались редко, что связано с высоким количественным и качественным составом бактериальной биоты. Лишь *C. cladosporioides* выделялся более чем в половине проб сортов Вижен и Жёлтая крупная. Наименьшее видовое разнообразие грибов отмечено на сортах Золотистая ранняя, Богатырская и Волжская красавица.

В конце вегетационного периода видовое разнообразие грибов на разных сортах выровнялось, а встречаемость многих видов возросла. Однако единого грибного доминанта так и не появилось.

Кластерный анализ показал высокую степень сходства грибной микробиоты сортов Богатырская и Волжская красавица, Конфетная и Мирная. Высокой специфичностью отличался микрокомплекс сорта Жёлтая крупная.

Таким образом, можно предположить, что у сливы домашней имеется сортоспецифичность эпифитной микробиоты.

На 7 сутки в условиях *in vitro* общая численность бактерий при действии инсектицидов Алатар (малатион, циперметрин) и Танрек (имидоклоприд) была сопоставима с контролем. Остальные препараты значительно снижали численность по сравнению с контролем. Наиболее безопасным для бактериальной микробиоты на протяжении всего эксперимента оказался препарат Танрек на основе имодаклоприда. Мы предполагаем, что данный инсектицид оказывает такое влияние в связи с тем, что является синтетическим производным никотина, содержащегося в растениях.

Алатар был единственным из препаратов, который полностью подавил рост *C. cladosporioides*. Кинмикс полностью подавил рост *R. arrhirus*, Фуфанон-нова и Танрек простилировали рост данного гриба, остальные препараты не оказали достоверного влияния. Численность остальных видов была сопоставима с контролем. Таким образом, разные инсектициды оказывали разное действие на те или иные виды грибов.

Препараты Алатар и Фуфанон-нова на 7 день простилировали рост *R. arrhirus*, а Биокилл - *C. cladosporioides*. Алатар также подавлял рост *C. cladosporioides*, а Кинмикс - рост *R. arrhirus*.

Таким образом, в условиях *in vitro* препараты в основном подавляли рост бактериальной биоты и стимулировали рост грибной.

Проведённые исследования показали неоднозначное влияние химических инсектицидов в условиях *in vivo* на эпифитную микробиоту обрабатываемых растений. С одной стороны, они подавляют рост большинства видов грибов на поверхности листьев, снижая тем самым и риск возникновения микозов. Вместе с тем, выявлены единичные случаи стимуляции роста отдельных видов Fungi. Это говорит о необходимости

дальнейшей проверки влияния используемых инсектицидов на конкретных возбудителей наиболее опасных микозов сливы: *Clasterosporium carpophilum*, *Polystigma rubrum*, *Monilia laxa* и *M. fructigena*. Бактериальная микробиота, участвующая в колонизационной резистентности растений, также в большинстве случаев снижает свою численность за счёт отдельных наиболее чувствительных видов. Это делает растение более уязвимым к воздействию других паразитических организмов. Вместе с тем, основной участник колонизационной резистентности растений – *B. subtilis* – продемонстрировал высокую устойчивость ко всем исследованным препаратам. Поэтому есть основания считать, что при применении химических инсектицидов растения не утратят полностью своей естественной защиты в виде эпифитной бактериальной микробиоты.

Таким образом, можно говорить о том, что наиболее безопасным для микробиоты растений является препарат Танрек, который не подавляет рост бактерий, но снижает численность грибов на обработанных растениях.

Выводы

1. Бактериальная составляющая эпифитной микробиоты сливы в основном была представлена родом *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. soli*, *B. bataviensis*, *B. halodurans*). Роды *Paenibacillus*, *Cellulomonas*, *Lactococcus* были представлены единичными видами. Наиболее широко среди грибов были представлены роды *Aspergillus* и *Fusarium* (по 3 вида).
2. Основными доминантами эпифитной микробиоты сливы являются *B. subtilis* (индекс встречаемости 98-100 %), *A. alternata* (40-100 %), *C. cladosporioides* (19-100 %), которые стабильно встречались в течение всего вегетационного сезона.
3. Наиболее востребованными источниками углерода для бактерий-ассоциантов сливы домашней являлись белки (используют 100 % штаммов), пептон (100 %), глюкоза (100 %), источником азота – белки (100 %), пептон (100 %) и соли аммония (100 %).

4. В условиях *in vitro* инсектициды Кинмикс, Фуфанон-нова, Би-58 и Биокилл подавляли рост бактериальной биоты, препараты Алатар, Фуфанон-нова и Би-58 стимулировали рост грибной микробиоты.

5. В условиях *in vivo* большая часть препаратов подавляла рост как бактериальной, так и грибной микробиоты. Препарат Танрек не влиял на численность бактериальной микробиоты, а Кинмикс стимулировал рост грибной микробиоты.

6. Наиболее безопасным для микробиоты растений является препарат Танрек, который не подавлял рост бактерий, но снижал численность грибов на обработанных растениях.

Список использованных источников

- 1 Осипов, Г. Е. Биологические особенности сливы и селекционное решение проблемы сортимента Нижнего Поволжья: автореф. дис.....канд. с.-х. наук / Г. Е. Осипов. – Мичуринск, 2011. – 47 с.
- 2 Аушева, М. М. Состав и эколого-фаунистическая характеристика насекомых вредителей плодовых культур республики Ингушетия: автореф. дис.....канд. биол. наук / М. М. Аушева. – Махачкала, 2008. – 23 с.
- 3 Оберемок, В. В. Современные инсектициды: их преимущества, недостатки и предпосылки к созданию ДНК-инсектицидов / В. В. Оберемок, А. С Зайцев // Учёные записки таврического национального университета имени В. И. Вернандского. Серия: биология, химия. – 2014. – Т. 27, № 1. – С. 112-126.
- 4 Каменей, Л. К. Экологическая оценка влияния химических и биологических инсектицидов в различных слоях почвенного профиля / Л. К. Каменей, А. Н. Кащицин // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: естественные науки. – 2012. – № 21. – С. 105-109.
- 5 Якуба, Г. В. Особенности формирования функциональной структуры микопатокомплексов яблони и сливы в условиях усиления абиотического и антропогенного воздействий / Г. В. Якуба, И. Г. Мищенко // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2022. – № 2. – С. 160 -165.
- 6 Алейникова, М. В. Количественные и качественные показатели эпифитной микрофлоры карпосферы некоторых плодовых культур / М. В. Алейникова // Наука и современность. – 2011. – № 12. – С. 10-11.
- 7 Идентификация эпифитной микрофлоры плодовых культур республики Адыгея / И. Е. Бойко [и др.] // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2006. – № 5. – С. 15-16.

- 8 Тилакова, Ш. Х. Доминирующие бактерии природных ниш Андиканской области / Ш. Х Тилакова, Ш. Ю. Агзамова // Multidisciplinary scientific journal. – 2022. - № 1. – С. 215-225.
- 9 Фоменко, И. А. Утилизация целлюлосодержащих отходов при помощи грибов / И. А. Фоменко, С. Н. Тучкова // Новые технологии. – 2021. – № 17. – С. 123-132.
- 10 Широких, А. А. Совместная эволюция растений и микрорганизмов / А. А. Широких // Теоретическая и прикладная экология. – 2008. – № 4. – С. 4-15.

Мин