

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

**УЧАСТИЕ ЯБЛОННОЙ ТЛИ (*APHIS POMI DE GEER*) В
РАСПРОСТРАНЕНИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ,
ПОРАЖАЮЩИХ ПОБЕГИ ЯБЛОНЬ.**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студентки 4 курса 422 группы
направления подготовки бакалавра 060301 Биология
биологического факультета
Литовченко Ирины Геннадьевны

Научный руководитель
к.б.н., доцент

дата, подпись

А. М. Петерсон

Заведующий кафедрой
д.б.н., профессор

дата, подпись

С. А. Степанов

Саратов 2016

Введение

Актуальность темы. Зеленая яблонная тля (*Aphis pomi* De Geer) является экономически значимым вредителем яблонь и поражает деревья по всему Северному полушарию [1]. На территории России вид распространен повсеместно, в том числе и в Саратовской области. Яблонная тля наносит большой ущерб не только яблоне, но и груше, сливе, айве [2]. Питается также на рябине, боярышнике, кизильнике, черемухе, персике, абрикосе, миндале и других растениях. Особенно сильно страдают от повреждений плодовые сеянцы и саженцы в питомниках, а также молодые сады. При массовом размножении тлей происходит скручивание, увядание поврежденных листьев и побегов, что приводит к снижению продуктивности плодовых деревьев [3]. Кроме того, тли могут являться единственными или преимущественными переносчиками фитопатогенных агентов или же могут принимать только частичное или случайное участие в переносе инфекции. В настоящее время в литературе накоплены данные, показывающие, что насекомые могут не только служить механическими переносчиками, но некоторые из них представляют собой значительные резервуары инфекции в природе. Известно участие яблонной тли в сохранении и распространении таких фитопатогенных бактерий как *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae*, *Dickeya dadantii*, *E. aphidicola*, *Pantoea stewartii* [3]. Из всех фитопатогенов наибольшее экономическое значение имеют грибы. Они вызывают не менее 80% всех болезней растений [4]. Однако в литературе отсутствуют данные о роли яблонной тли в распространении фитопатогенных грибов.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы стало изучение роли яблонной тли в сохранении и распространении фитопатогенных грибов, поражающих побеги яблонь. Для достижения указанной цели были поставлены и решены следующие задачи:

1. Установить наличие фитопатогенных грибов в организмах яблонных тлей, питающихся на поражённых побегах яблонь.

2. Сравнить содержание фитопатогенных грибов в организмах яблонных тлей, на кормовых растениях этих насекомых и в организмах муравьёв, питающихся на колониях тлей.

3. Определить влияния видов-доминантов микробоценозов яблонных тлей на выявленные виды фитопатогенных грибов.

Материал и методы исследования. Работа проводилась в мае-июле 2015 г. Объектами микробиологических исследований послужили бескрылые самки яблонной тли (*Aphis pomi* De Geer), муравьи, трофически связанные с колониями яблонной тли и кормовые растения – побеги яблонь. Все пробы отбирались на территории Саратовской области в Саратовском, Энгельском и Дергачевском районах. Отбор всех проб проводился на деревьях с однотипными поражениями побегов, заключающимися в растрескивании и почернении коры. Всего было исследовано 60 особей тлей, 30 особей муравьёв и 30 поражённых побегов яблонь.

Бактериологические посеы осуществляли на среду PDA, посеы культивировали 4-5 суток при температуре 28°C. Для идентификации выделенных штаммов грибов были изучены их морфологические и культуральные свойства. Видовую принадлежность грибов предварительно определяли с помощью определителя Минкевича И. И., Дорофеевой Т. Б., Ковязина В. Ф. «Фитопатология. Болезни древесных и кустарниковых пород» [5]. Подтверждение видовой принадлежности изолятов проводили путем выявления видоспецифичных участков рибосомальных РНК методом ПЦР (полимеразной цепной реакции) в институте фармацевтической биологии и биотехнологии (г. Дюссельдорф, Германия) и в лаборатории микологии и фитопатологии Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений (г. Санкт-Петербург, Россия).

Для изучения влияния доминантов микробоценозов яблонных тлей на фитопатогенные грибы были использованы штаммы из коллекции микроорганизмов кафедры микробиологии и физиологии растений СГУ: *Bacillus pumilus*, *B. subtilis*, *B. clausii*, *B. nealsoni*, *B. funiculus*, *B. halodurans*,

выделенные ранее из организмов яблонных тлей. Антагонистическую активность доминантов микробоценозов тлей определяли методом нанесения агаровых блоков с бактериальными и грибными культурами на среду PDA. В случае антагонизма бактерий рост культуры грибов затормаживался или прекращался совсем.

Структура и объём работы. Работа изложена на 37 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников, приложение. Работа проиллюстрирована 8 таблицами и 5 рисунками. Список использованных источников включает 55 наименований.

Основное содержание работы

В главе «Основная часть» представлен анализ литературных данных об особенностях биологии яблонной тли, о симбиотических микроорганизмах этих насекомых, об участии тлей в сохранении и распространении фитопатогенных микроорганизмов.

В главе «Результаты исследования» изложены экспериментально полученные данные о фитопатогенных грибах, ассоциированных с организмом яблонной тли, об антагонистической активности бактерий-доминантов микробоценоза яблонной тли по отношению к фитопатогенным грибам.

Было установлено, что с поверхности побегов яблонь с признаками поражения микозами изолируются фитопатогенные грибы *Alternaria alternate*, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. tubingensis*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium incarnatum equiseti*, *F. tricinctum*, *Trichoderma harzianum*, *Phoma fungicola*. Однако далеко не все фитопатогенные грибы могут попадать в организм яблонной тли и сохраняться там. В наших исследованиях из яблонной тли изолировались лишь четыре вида грибов: *Alternaria alternata*, *Fusarium incarnatum-eguiseti*, *Aspergillus niger* и *A. fumigatus*. Выделенные из тлей фитопатогенные грибы являются возбудителями аспергиллезов, альтернариоза и фузариоза яблонь.

Наиболее часто встречаемыми в организмах тлей видами фитопатогенных грибов был *Aspergillus niger*, который обнаруживался в 11,7% проб. Реже в организмах тлей регистрировались *Alternaria alternata* и *Fusarium incarnatum-eguiseti* (8,4 и 6,7% соответственно). Единично встречался *Aspergillus fumigatus* (в 1,7% проб). Количественные показатели содержания фитопатогенных грибов в пробах тлей были различны. *Alternaria alternata* содержался в организмах насекомых всегда в большем количестве, чем другие виды фитопатогенных грибов – 10^5 КОЕ в пробе, что говорит о хорошей адаптированности этого фитопатогена к обитанию в организме яблонной тли. Для других видов этот показатель не превышал 10^3 КОЕ (таблица 1).

Таблица 1 - Встречаемость и количественное содержание возбудителей микозов яблонь в организмах яблонной тли в Саратовской области

Виды	Встречаемость в пробах, %	Количественное содержание в организме насекомых, КОЕ в пробе
<i>Alternaria alternata</i>	8,4	10^5
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1,7	10^3
<i>A. niger</i>	11,7	10^3
<i>Fusarium sp.</i>	6,7	10^3

Была проанализирована встречаемость фитопатогенных грибов в организмах тлей в разных районах Саратовской области. Оказалось, что наиболее часто фитопатогенные грибы изолировались в Саратовском районе, реже в Энгельсском районе и совсем не выделялись из насекомых, собранных в Дергачёвском районе. Такая закономерность может быть

связана с более засушливым климатом Энгельсского и Дергачёвского районов.

Из каждого района было исследовано по 10 комплексных проб, состоящих из побегов яблонь, питающихся на них колоний яблонной тли и трофически связанных с ними муравьёв. В Саратовском районе в четырёх случаях грибы не выделены ни из одного объекта. В 6 случаях грибы выделялись как минимум из одного объекта исследования.

В Энгельсском районе в восьми комплексных пробах грибы не выделялись, в одной пробе *Aspergillus niger* был изолирован как с побега, так и из организмов тлей и муравьёв, в другой пробе *Alternaria alternata* был выделен из организмов тлей и с поверхности побегов.

Из муравьёв фитопатогенные грибы выделялись редко, причём это был только 1 вид – *Aspergillus niger*.

Чаще всего из организмов яблонной тли изолировали один из грибов, обитающих на поверхности кормового растения. Однако в некоторых случаях грибы присутствовали на поверхности побега, но не изолировались из тлей. В двух случаях в организмах тлей находили виды, отсутствующие на кормовом растении. Это может быть следствием миграций тлей с одного кормового растения на другое. В результате возбудитель может переноситься с поражённого побега на здоровый.

Помимо грибковой микрофлоры, организм тли содержит большое количество бактериальных ассоциантов. Поэтому на следующем этапе работы мы попытались посмотреть, какое влияние могут оказывать бактерии-доминанты микрофлоры тли на фитопатогенные грибы, попадающие в организм насекомых

Среди фитопатогенных грибов наиболее слабую устойчивость к воздействию бактерий-ассоциантов насекомых проявил *Aspergillus fumigatus*, подавляемый тремя видами бактерий: *B. subtilis*, *B. nealsoni* и *B. halodurans*. *Aspergillus niger* был подавлен двумя видами бактерий: *B. pumilus* и *B. nealsoni*. Самой высокой устойчивостью к бактериям-доминантам

миктобocenозов яблонной тли обладает *Fusarium incarnatum-eguiseti*, подавляемый только одним видом – *B. subtilius* (таблица 2)

Таблица 2 – Антагонистическая активность бактерий-доминантов микробоценозов яблонной тли по отношению к фитопатогенным грибам

Виды фитопатогенных грибов	Бактерии-доминанты микробоценозов яблонных тлей					
	<i>B. pumilus</i>	<i>B. subtilius</i>	<i>B. clausii</i>	<i>B. nealsoni</i>	<i>B. funiculus</i>	<i>B. halodurans</i>
<i>Fusarium incarnatum-eguiseti</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	+	-	+	-	+
<i>Aspergillus niger</i>	+	-	-	+	-	-
<i>Alternaria alternata</i>	-	+	-	-	+	-

+ наличие антагонистической активности

- отсутствие антагонистической активности

По литературным данным известно, что подавление фитопатогенных грибов бациллами происходит за счет выделения высокоактивных антибиотиков. Так, *B. subtilius* синтезирует микобациллин, подавляющий рост *Aspergillus niger*, *B. clausii* – антибиотические вещества, угнетающие рост фитопатогенных грибов. Многие штаммы *Bacillus* продуцируют фунгоцин и фунгистатин обладающие выраженным антибиотическим действием в отношении некоторых грибов.

Таким образом, в результате исследования было показано участие тлей в распространении фитопатогенных грибов *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium incarnatum-eguiseti* и *Alternaria alternata*. Впервые показано, что доминанты нормальной микрофлоры тли могут подавлять рост и размножение фитопатогенных грибов, попавших в организм переносчика.

Выводы

1. При питании яблонной тли на поражённых микозами побегах яблонь организмы этих насекомых могут служить резервуарами фитопатогенов *Aspergillus niger* (встречаемость в пробах 11,7%), *Aspergillus fumigatus* (встречаемость в пробах 1,7%), *Alternaria alternata* (встречаемость в пробах 8,4%) и *Fusarium incarnatum-eguiseti* (встречаемость в пробах 6,7)
2. Фитопатогенные грибы чаще изолировались из организмов яблонной тли в Правобережье Саратовской области. (95% изолятов) В более аридных районах Левобережья роль яблонной тли в сохранении фитопатогенных грибов незначительна.
3. В трофической цепи растение-тли-муравьи наиболее активно циркулирует вид *A. niger*.
4. Показанно, что доминанты нормальной микрофлоры тли (*B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. nealsoni*, *B. funiculus*, *B. halodurans*.) могут подавлять рост и размножение фитопатогенных грибов, попавших в организм переносчика.

Список использованных источников

1. Бей-Биенко, Г.Я. Насекомые и клещи вредители сельскохозяйственных культур: справочник / Г.Я. Бей-Биенко СПб.: Наука, 1972. Т.1. 164 с.
2. Афонин, А.Н. Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения/ С.Л. Грин, Н.И. Дзюбенко, А.Н. Фролов [Интернет-версия 2.0]. 2008 г. URL: <http://www.agroatlas.ru/html> (дата обращения 10.05.2015 г.).
3. Бергун, С.А. Экологические аспекты мониторинга зеленой яблонной тли (*Aphis pomi* Deg.) в яблоневых садах центральной зоны Краснодарского края / С.А. Бергун. Ставрополь, 2004. 22 с.
4. Дьяконов, К. П. Насекомые как фактор распространения фитопатогенных вирусов на Дальнем Востоке России / К. П. Дьяконов // Чтения памяти А. И. Куренцова. 2000. Вып. 11. С. 15–26.
5. Nadarasah, G. Insects as alternative hosts for phytopathogenic bacteria / G. Nadarasah, J. Stavrinides // Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews. 2011. Vol. 35. P. 555–575.
6. Малышина, М. С. Динамика видового состава и эколого-физиологические особенности микробоценозов тлей (HOMOPTERA: APIDIDAE), паразитирующих на древесных и кустарниковых растениях. Дис. канд. биол. наук./ М. С. Малышина. Саратов, 2003. 144 с.