

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н. Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра микробиологии и физиологии растений

**АССОЦИАТИВНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ТРОФИЧЕСКОЙ ЦЕПИ
КАШТАНОВАЯ МИНИРУЮЩАЯ МОЛЬ *CAMERARIA OHRIDELLA*
DESCHKA ET DIMIĆ, 1986 (LEPIDOPTERA: GRACILLARIIDAE) -
КОНСКИЙ КАШТАН ОБЫКНОВЕННЫЙ *AESCULUS*
HIPPOCASTANUM L., 1753 (SAPINDACEAE: HIPPOCASTANACEAE)**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 2 курса 241 группы

Направления подготовки магистратуры 06.04.01 Биология

Биологического факультета

Элкафори Ахмед Басиони Абделхади Ибрахим

Научный руководитель:

доцент, канд. биол. наук

Е. В. Глинская

Зав. кафедрой:

профессор, доктор биол. наук

С. А. Степанов

Саратов 2021

Введение

Актуальность темы. Декоративные и озеленительные насаждения являются неотъемлемой частью современных городских ландшафтов, важнейшей составляющей жизнедеятельности человека в условиях, как мегаполисов, так и небольших городских поселков. Озеленение населенных мест – неотъемлемая часть их архитектурного облика и благоустройства. Роль зеленых насаждений для населенных пунктов заключается в повышении качества жизни горожан и поддержании экологического равновесия среды.

Состояние, долговечность и декоративность зеленых насаждений в значительной степени зависят от их повреждаемости вредными объектами. В связи с этим, поддержание деревьев и кустарников в неповрежденном состоянии является основной задачей в деятельности озеленительных организаций [1].

Минирующая моль наносит значительный ущерб частным и фермерским хозяйствам. Так, личинки каштановой моли продвигаются по листьям, выедают на своём пути сочную зелёную мякоть и оставляют за собой пустые ходы. При большом нашествии гусениц мины сливаются между собой, и листовая пластинка лишается зелёной массы. Листья покрываются буроватыми пятнами, быстро увядают и опадают на землю. Лишившись листового покрова, растение не в состоянии накопить минимум питательных веществ, необходимых для зимовки [2-12].

Цель и задачи исследования. Цель работы: изучение ассоциативных микроорганизмов трофической цепи каштановая минирующая моль - конский каштан обыкновенный.

Для реализации поставленной цели были определены следующие задачи.

1. Определить видовой состав и количественные показатели ассоциативных микроорганизмов листьев конского каштана обыкновенного.

2. Выявить видовой состав и количественные показатели ассоциативных микроорганизмов гусениц каштановой минирующей моли.

3.Изучить биологические свойства выделенных культур микроорганизмов.

Материал и методы исследования.

Исследование проводилась на базе кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского.

В ходе работы определяли видовой состав, индекс встречаемости (ИВ) и количественные показатели (КОЕ/г) ассоциативных микроорганизмов здоровых листьев конского каштана обыкновенного, гусениц каштановой минирующей моли, мин с гусеницами и без них.

В ходе исследования были использованы следующие методы: культивирование микроорганизмов на различных питательных средах, количественный учёт бактерий и грибов, окраска по Граму, изучение биохимической активности (тест Фогес–Проскауэра, выявление гидролиза желатина, крахмала, культивирование на средах Гисса, культивирование при различных концентрациях солей (NaCl: 2 %, 5 %, 7 %, 10 %, 15 %), культивирование при различных значениях pH среды (5, 9, 10), при различных значениях температуры (10 °C, 45 °C), выявление способности к образованию газообразных продуктов из пептона, выявление способности к редукции нитратов, использованию цитратов) [13].

Количественный учёт выделенных штаммов микроорганизмов проводили на первичных посевах, далее культуры отсевали на скошенную среду с целью дальнейшего изучения биохимических свойств, а также идентификации полученных штаммов.

Идентификацию культур осуществляли на основании изучения фенотипических свойств изолированных штаммов.

Структура и объем работы. Работа изложена на 59 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников. Работа проиллюстрирована 9 таблицами.

Список использованных источников включает в себя 56 наименований.

Научная новизна. Впервые изучены ассоциативные микроорганизмы трофической цепи каштановая минирующая моль - конский каштан обыкновенный. Выделено 3 рода бактерий (*Bacillus*, *Kurthia*, *Xenorhabdus*) и 5 родов грибов (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Rhizopus*).

Научная значимость. Проведенное комплексное исследование микробных ассоциаций растений конского каштана обыкновенного и гусениц каштановой минирующей моли открывает перспективы использования изолированных видов бактерий и грибов в качестве биологических методов ограничения численности насекомых-вредителей сельскохозяйственных культур.

Положения, выносимые на защиту.

1. Микробные ассоциации растений конского каштана обыкновенного и гусениц каштановой минирующей моли представлены сапрофитными бактериями и грибами.
2. Видовой состав и количественные показатели ассоциативных микроорганизмов конского каштана обыкновенного зависят от фазы развития растений.
3. Микробиологические показатели гусениц каштановой минирующей моли зависят от фазы развития насекомых.
4. Микробоценозы растений конского каштана обыкновенного и гусениц каштановой минирующей моли имеют общие виды бактерий и грибов.

Основное содержание работы

В главе «Основная часть» представлен анализ литературных данных о семействе минирующих молей, представлен видовой состав микроорганизмов, ассоциированных с насекомыми, охарактеризованы методы борьбы с насекомыми-вредителями.

В главе «Результаты исследования» изложены экспериментально полученные данные о видовом составе, количественных показателях, индексе

встречаемости ассоциативных микроорганизмов, которые были выделены с листьев конского каштана обыкновенного и гусениц каштановой минирующей моли. Представлены данные о биологических свойствах выделенных культур микроорганизмов, диапазоне их устойчивости при различных физико-химических факторах.

Объекты исследований были собраны в скверах г. Саратова на улицах Астраханская и Большая Садовая. Для микробиологического анализа были собраны здоровые листья конского каштана и листья, пораженные каштановым минером.

В ходе исследований было выделено 28 штаммов микроорганизмов, изучены их биологические свойства, определены экологические показатели. Из объектов изолировано 3 рода бактерий (*Bacillus*, *Kurthia*, *Xenorhabdus*) и 5 родов грибов (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Rhizopus*).

Бактерии *Bacillus halodurans* изолировались из здоровых листьев, гусениц, мин и здоровых листьев. Грибы *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp. и *Penicillium* sp. были обнаружены в минах и здоровых листьях (1 поколение, улица Астраханская).

Бактерии *Bacillus halodurans* и *Bacillus megaterium* выделялись из гусениц, мин и здоровых листьев. Грибы *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp., *Rhizopus* sp. были обнаружены в минах и здоровых листьях (1 поколение, улица Большая Садовая).

Бактерии *Xenorhabdus luminesces* изолировались из гусениц, мин и здоровых листьев. Грибы *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp. были обнаружены в минах и здоровых листьях (2 поколение, улица Астраханская).

Бактерии *Bacillus thuringiensis* изолировались из гусениц, мин без гусениц, здоровых листьев. Бактерии *Xenorhabdus luminescens* изолировались из гусениц, мин и здоровых листьев. Грибы *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp. были обнаружены в минах и здоровых листьях (2 поколение, улица Большая Садовая).

Бактерии *Bacillus niacini* и *Kurthia zopfii* выделялись из гусениц, мин и здоровых листьев. Грибы *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp. были обнаружены в гусеницах, минах и здоровых листьях. Грибы *Aspergillus flavus* были изолированы только из здоровых листьев (3 поколение, улица Астраханская).

Бактерии *Bacillus niacini* изолировались из мин без гусениц. Бактерии *Bacillus simplex* выделены из гусениц, мин и здоровых листьев. Бактерии *Kurthia gibsonii* выделены из гусениц. Грибы *Aspergillus flavus* были обнаружены в здоровых листьях конского каштана. Грибы *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp. были обнаружены в гусеницах, минах и здоровых листьях (3 поколение, улица Большая Садовая).

Таким образом, в течение периода исследований с июня по октябрь наблюдается рост общей микробной обсемененности объектов и значительное увеличение видового разнообразия (и или замещение видов). Если в июне из гусениц первого поколения, мин и здоровых листьев изолированы только виды бактерий рода *Bacillus* (*B. halodurans*, *B. megaterium*) и грибы: *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp., *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., то уже в период второго поколения наблюдается изменение видового состава. В августе из материала были выделены микроорганизмы: *Bacillus thuringiensis*, *Xenorhabdus luminescens*, *Alternaria alternata* и *Fusarium* sp. Виды *Bacillus halodurans*, *Bacillus megaterium*, *Rhizopus* sp. и *Penicillium* sp. в августе обнаружены не были, как и в третьем поколении гусениц. В октябре из материала были изолированы микроорганизмы *Kurthia zopfii*, *Kurthia gibsonii*, *Bacillus niacini*, *B. simplex*, *Aspergillus flavus*, *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp. Гусеницы каштанового минера значительно меньше обсеменены микроорганизмами по сравнению со здоровыми листьями растения-хозяина.

При изучении биологических свойств бактерий, изолированных с поверхности листьев растений конского каштана обыкновенного и из гусениц каштанового минера использовались различные тесты для выявления активности штаммов.

Все выделенные штаммы обладают каталазной активностью (100 %). 44 % изолированных штаммов обладают оксидазной активностью.

Многие изоляты способны к редукции нитратов (77 %), и свыше половины штаммов – к фиксации азота (N_2) (54 %). Образование ацетона при ферментации глюкозы (100 %) характерно для 33 % штаммов, утилизация цитрата – для 44 %.

Все выделенные штаммы способны образовывать из пептона аммиак (NH_3) и сероводород (H_2S). Большинство гидролизуют желатин (100 %), казеин (67 %) и крахмал (100 %), т.е. обладают протеолитическими свойствами

В основном, выделенные бактерии используют глюкозу (66 %), сахарозу (66 %), маннит (55 %) и арабинозу (44%). Мальтозу способны утилизировать только 33 % штаммов. Незначительная часть изолированных культур способна использовать лактозу (22 %). Изолированные штаммы бактерий не способны образовывать кислоту из ксилитозы и сорбита.

Изучая устойчивость штаммов к различным условиям среды, проводилось их культивирование при различных показателях температуры (10 °C и 43 °C), различных pH среды (5, 9, 10), концентрациях солей (NaCl) в среде от 2 до 15 %.

Выделенные микроорганизмы большей частью (56 %) не выдерживают низких температур (10 °C), а при повышении температуры культивирования до 43 °C 88 % культур способны к росту.

Увеличение показателя pH до 10 является допустимым для роста культур на плотных питательных средах, уменьшение показателя до 5 является лимитирующим. Концентрация NaCl в питательной среде от 2 до 15 % не ограничивает рост большинства изолированных штаммов.

Таким образом, для изолированных штаммов бактерий характерны протеолитическая и гидролитическая активности, способность к использованию глюкозы, сахарозы и маннита, устойчивость к широкому диапазону концентраций хлорида натрия в среде и высоким показателям pH.

Анализируя полученные данные, можно сделать заключение.

Из гусениц каштановой минирующей моли и с листьев растений конского каштана обыкновенного изолировано 3 рода бактерий (*Bacillus Kurthia*, *Xenorhabdus*) и 5 родов грибов (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria Rhizopus*).

По видовому разнообразию преобладали бактерии рода *Bacillus*, которые представлены 5 видами.

При изучении 1 поколения гусениц каштанового минера и растений, на которых они паразитировали, были выделены бактерии *Bacillus halodurans*, *Bacillus megaterium* и грибы *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. и *Rhizopus* sp.

При изучении 2 поколения гусениц каштанового минера и растений, на которых они паразитировали, были выделены бактерии *Xenorhabdus luminesces*, *Bacillus thuringiensis* и грибы *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp.

При изучении 3 поколения гусениц каштанового минера и растений, на которых они паразитировали, были выделены бактерии *Bacillus niacini*, *Bacillus simplex*, *Kurthia zopfii*, *Kurthia gibsonii* и грибы *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp и *Aspergillus flavus*.

При смене поколений гусениц каштановой минирующей моли, паразитирующей на растениях конского каштана обыкновенного, в период с июня по октябрь наблюдается рост общей микробной обсемененности объектов и значительное увеличение видового разнообразия (и или замещение видов).

ВЫВОДЫ

1. 13 видов микроорганизмов – бактерии *Bacillus halodurans*, *B. megaterium*, *B. niacini*, *B. Simplex*, *B. thuringiensis*, *Kurthia gibsonii*, *K. zopfii*, *Xenorhabdus luminescens* и грибы *Aspergillus flavus*, *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp., *Rhizopus* sp. и *Penicillium* sp. были выделены из гусениц каштановой минирующей моли и растений конского каштана обыкновенного.

2. 100 % выделенных штаммов бактерий обладают каталазной активностью, образуют ацетон при ферментации глюкозы, проявляют пептолитические свойства, гидролизуют крахмал и желатин. 77 % изолятов способны к редукции нитратов, 66 % штаммов утилизируют глюкозу и сахарозу.

3. 88 % штаммов способны выживать при температуре 43 °С. 100 % изолятов являются алкалотолерантными, рН 10 не ограничивает их рост. 55 % культур являются галотолерантными, их рост наблюдается при концентрации хлорида натрия в среде 15 %.

Список использованных источников

- 1 Ткаченко, О. В. Біологічне забруднення середовища, причини, прояви, наслідки / О. В. Ткаченко // Вісник БЦДАУ. – 2006. – Т. 37, № 9. – С. 139 – 151.
- 2 Сироцинская, Т. К. Морфологическая изменчивость конского каштана / Т. К. Сироцинская // Лесоводство и агролесомелиорация. – 1968. – Т. 15, № 5. – С. 143 – 146.
- 3 Бабенко, Т. М. Состав и состояние декоративных древесных растений в уличных посадках г. Минска / Т. М. Бабенко. – М. : Москва, 1982. – 83 с.

- 4 Горленко, С. В. Устойчивость древесных интродуцентов к биотическим факторам / С. В. Горленко, А. И. Блинцов, Н. А. Панько. – М. : Наука и техника, 1988. – 189 с.
- 5 Герасимов, А. М. Моли–минеры / А. М. Герасимов // Изв. Ленингр. ин–та борьбы с вредителями в сельском и лесном хоз–ве. – 1932. –Т. 12, № 3. – С. 197 – 248.
- 6 Бабенко, З. С. Насекомые фитофаги плодовых и ягодных растений в лесной зоне Приобья / З. С. Бабенко. – Томск : Изд-во Томского ун–та, 1982. – 156 с.
- 7 Багдавдзе, А. З. Изучение моли-пестрянки (*Phyllonorycter blancardella* F.) вредителя плодовых культур Восточной Грузии / А. З. Багдавдзе // Зоологический журнал. – 1963. – Т. 42, № 9. – С. 1412 – 1413.
- 8 Артюховский, А. К. Опут ях улучшения рекреационных свойств лесопарковых насаждений / А. К. Артюховский // Воронеж. – 1996. – Т. 26, № 3. – С. 87 – 89.
- 9 Кузнецов, В. И. Определитель насекомых Европейской части СССР / В. И. Кузнецов [и др.] // АН СССР. Зоологический ин–т: Чешуекрылые.– 1978. – Т. 100, № 5. – С. 71 – 75.
- 10 Лаптев, И. П. Сельское хозяйство и охрана природы / И. П. Лаптев. – М. : Колос, 1982. – 38 с.
- 11 Мешкова, В. Л. Сезонное развитие хвоелистогрызущих насекомых / В. Л. Мешкова. – М. : Наука, 1981. – 311 с.
- 12 Гниненко, Ю. И. Мони оринг изменений границ ареалов некоторых опасных лесных фитофагов / Ю. И. Гниненко // Центр защиты леса. – 1999. – Т. 2, № 5. – С. 4 – 9.
- 13 Подойникова, П. А. Сезонные особенности *Zea mays* в условиях их взаимодействия с грибами рода *Trichoderma*: учебное пособие / П. А. Подойникова. – Новосибирск : Сибирский федеральный университет, 2016. – 69 с.