

МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі

ФЯДЗЮШКА
Ілья Аляксандравіч

ФІТАПАТАГЕННЫЯ ГРЫБЫ РОДУ *ALTERNARIA* NEES
І ПОШУК ПЕРСПЕКТЫЎНЫХ БАКТЭРЫЯЛЬНЫХ
АНТАГАНІСТАЎ

Анатацыя да дыпломнай работы

Навуковы кіраўнік:
кандыдат сельскагаспадарчых навук,
дацэнт В.Дз. Паліксенава

Мінск, 2020

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: 70 старонак, 12 табліц, 26 малюнкаў, 58 крыніц.

ГРЫБЫ Р. *ALTERNARIA*, АНТАГАНІСТЫ р. *BACILLUS*, р. *PSEUDOMONAS*

Аб'ект даследавання: фітапатагенныя грыбы роду *Alternaria* Nees.

Мэта работы: узнаўленне калекцыі чыстых культур відаў роду *Alternaria* Nees кафедры батанікі БДУ, даследванне морфа-біялагічных асаблівасцей шэрагу відаў гэтага роду, а таксама пошук патэнцыяльных бактэрыяльных антаганістаў у мэтах распрацоўкі комплексных біясродкаў для барацьбы з альтэрнарыёзамі раслін.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя, малекулярныя, статыстычныя: Statistica 6.0, Microsoft Excel 2010, MEGA6, TREECON for Windows v. 1.3b.

Вынікі даследавання. Пасля 10 гадоў захавання ўзноўлена жыццяздольнасць 13 відаў (35 ізалятаў) з калекцыі альтэрнарыевых грыбоў адзінай у Беларусі. Створана фотатэка канідый. Аптымальнымі ўмовамі для доўгачасовага захавання ізалятаў у стане канідыягенезу з'яўляецца 4°C у прабірках тыпу эпендорфа.

Марфалагічна, па суадносінах даўжыні да шырыні канідый, віды альтэрнарый раздзяліліся на 3 групы: буйнаспаравыя з доўгім апікальным адросткам (4,2 – 16,4); сярэдняспаравыя з адросткам роўным ці трохі меншым за корпус канідыі (2,9 – 3,1) і драбнаспаравыя з імкненнем да выцягвання корпуса канідыі (менш 2,9). Ахарактарызаваны рэпрадуктыўны патэнцыял 5 відаў, выяўлена заканамернасць: чым буйнейшыя канідыі ўтварае від, тым больш клетак (кожная з якіх дае 1 растковую гіфу) уваходзіць у яе склад і тым менш канідый утвараецца ў культуры на адзінку плошчы.

Паказана, што тэмпературны оптымум для вегетатыўнага росту альтэрнарый знаходзіцца каля 22 ± 1 °C, але для інвазійнага ізаляту *A. species* III ён больш расцягнуты і складае 22 – 28 ± 1 °C. Тэмпературны оптымум прарастання канідый знаходзіцца ў больш шырокіх межах 22 – 28 ± 1 °C.

Скрынінг антыфунгальнай актыўнасці 8 штамаў бацыл і 5 штамаў псеўдаманад кафедры мікрабіялогіі БДУ паказаў, што лепшымі антаганістамі з'яўляюцца штамы роду *Bacillus*, сярод якіх самым высокім ўзроўнем антаганізму да большасці відаў альтэрнарый валодае штам *B. amyloliquefaciens* 71A3. Уяўляецца мэтазгодным спалучаць, у перспектыве, ў адным біяпрапарце найбольш актыўныя штамы з родаў *Bacillus* і *Pseudomonas*.

Адзначана, што інвазійны від *A. mali* I з яблыні ў адказ на ўздзеянне ўсіх антаганістаў хутка павышае ўзровень канідыягенезу ў 1,7 – 16,5 разоў на фоне затрымкі ВР калоніі, што адлюстроўвае стратэгію выжывання патагену.

ISSR-аналіз пацвердзіў дастаткова высокі ўзровень палімарфізму альтэрнарый. Эксперыментальна падабрана найлепшая тэмпература адпальвання для праймераў ISSR-09, ISSR-09A, ISSR-10, ISSR-24 – 54°C, і для ISSR-17 – 55°C.

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

ФЕДЮШКО
Илья Александрович

ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ РОДА *ALTERNARIA* NEES
И ПОИСК ПЕРСПЕКТИВНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ
АНТАГОНИСТОВ

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
кондидат сельскохозяйственных наук,
доцент В.Д. Поликсенова

Минск, 2020

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 70 страниц, 12 таблиц, 26 рисунков, 58 источников.

ГРИБЫ Р. *ALTERNARIA*, АНТАГОНИСТЫ Р. *BACILLUS*, Р. *PSEUDOMONAS*

Объект исследования: фитопатогенные грибы рода *Alternaria* Nees.

Цель работы: восстановление коллекции чистых культур видов рода *Alternaria* Nees кафедры ботаники БГУ, исследование морфо-биологических особенностей ряда видов этого рода, а также поиск потенциальных бактериальных антагонистов в целях разработки комплексных биосредств для борьбы с альтернариозами растений.

Методы исследования: микробиологические, молекулярные, статистические: Statistica 6.0, Microsoft Excel 2010, MEGA6, TREECON for Windows V.1.3 b.

Результаты исследования. После 10 лет хранения восстановлена жизнеспособность 13 видов (35 изолятов) из коллекции альтернариевых грибов единственной в Беларуси. Создана фототека конидий. Оптимальными условиями для длительного сохранения изолятов в состоянии конидиогенеза является 4°C в пробирках типа эпендорф.

Морфологически, по соотношению длины к ширине конидий, виды альтернарий разделились на 3 группы: крупноспоровые с длинным апикальным отростком (4,2 – 16,4); среднеспоровые с отростком равным или немножко меньшим корпусу конидии (2,9 – 3,1) и мелкоспоровые со стремлением к вытягиванию корпуса конидии (менее 2,9). Охарактеризован репродуктивный потенциал 5 видов, выявлена закономерность: чем крупнее конидии образует вид, тем больше клеток (каждая из которых дает 1 ростковую гифу) входит в её состав и тем меньше конидий образуется в культуре на единицу площади.

Показано, что температурный оптимум для вегетативного роста альтернарий находится около 22 ± 1 °C, но для инвазивного изолята *A. species* III он более растянут и составляет $22 - 28 \pm 1$ °C. Температурный оптимум прорастания конидий находится в более широких пределах $22 - 28 \pm 1$ °C.

Скрининг антифунгальной активности 8 штаммов бацилл и 5 штаммов псевдомонад кафедры микробиологии БГУ показал, что лучшими антагонистами являются штаммы рода *Bacillus*, среди которых самым высоким уровнем антагонизма, к большинству видов альтернарий, обладает штамм *B. amyloliquefaciens* 71А3. Представляется целесообразным сочетать, в перспективе, в одном биопрепарате наиболее активные штаммы из родов *Bacillus* и *Pseudomonas*.

Отмечено, что инвазивный вид *A. mali* из яблони в ответ на воздействие всех антагонистов быстро повышает уровень конидиогенеза в 1,7-16,5 раз на фоне задержки ВР колонии, что отражает стратегию выживания патогена.

ISSR-анализ подтвердил достаточно высокий уровень полиморфизма альтернарий. Экспериментально подобрана наилучшая температура отжига для праймеров ISSR-09, ISSR-09A, ISSR-10, ISSR-24 – 54°C, и для ISSR-17 – 55°C.

MINISTERSTWO EDUKACJI REPUBLIKI BIAŁORUSI
BIAŁORUSKI UNIWERSYTET PAŃSTWOWY
WYDZIAŁ BIOLOGII
Katedra mikrobiologii

ELIASZ FIADZIUSZKA

**GRZYBY FITOPATOGENNE Z RODZAJU *ALTERNARIA* NEES
I POSZUKIWANIE OBIECUJĄCYCH ANTAGONISTÓW
BAKTERYJNYCH**

Adnotacja do pracy dyplomowej

Promotor:
PhD, W.Dz. Paliksenawa

Mińsk, 2020

ŻYCIORYS

Praca dyplomowa: 70 stron, 12 tabel, 26 rysunków, 58 krynic.

Przedmiot badań: grzyby fitopatogenne z rodzaju *Alternaria* Nees.

GRZYBY R. *ALTERNARIA*, ANTAGONIŚCI R. *BACILLUS*,
R. *PSEUDOMONAS*.

Cel pracy: przywrócenie kolekcji czystych kultur gatunków z rodzaju *Alternaria* Nees Wydziału Botaniki BUP, badanie cech morfologicznych i biologicznych wielu gatunków tego rodzaju, a także poszukiwanie potencjalnych bakteryjnych antagonistów w celu opracowania złożonych czynników biologicznych do zwalczania alternariozami roślin.

Metody badania: mikrobiologiczna, molekularna, statystyczna: Statistica 6.0, Microsoft Excel 2010, MEGA6, TREECON dla Windows V.1.3 b.

Wyniki badania. Po 10 latach przechowywania przywrócono żywotność 13 gatunków (35 izolatów) z kolekcji grzybów *Alternaria* jedyną na Białorusi. Utworzono bibliotekę zdjęć konidiów. Optymalne warunki dla długotrwałego zachowania izolatów w stanie konidiogenezy to 4 °C w probówkach ependorfa.

Morfologicznie, w stosunku długości do szerokości konidiów, gatunki alternariów zostały podzielone na 3 grupy: duży zarodnik z długim wyrostkiem wierzchołkowym (4,2 – 16,4); zarodnik środkowy z wyrostkiem równym lub trochę mniejszym niż ciało konidiów (2,9 – 3,1) i mały zarodnik z tendencją do rozciągania ciała konidiów (mniej niż 2,9). Scharakteryzowano potencjał reprodukcyjny 5 gatunków, ujawniono wzór: im większe konidia tworzą gatunek, tym więcej komórek (z których każda daje 1 strzępkę zarodkową) jest zawartych w jego składzie i mniej konidiów powstaje w hodowli na jednostkę powierzchni.

Wykazano, że optymalna temperatura dla wegetatywnego wzrostu (WWz) alternariów wynosi około 22 ± 1 °C, ale dla inwazyjnego izolatu *A. species* III jest bardziej wydłużona i wynosi $22 - 28 \pm 1$ °C. Optymalną temperaturą kiełkowania konidiów mieści się w szerszym zakresie $22 - 28 \pm 1$ °C.

Badanie aktywności przeciwgrzybiczej 8 szczepów pałeczek a 5 szczepów pseudomonad z Wydziału Mikrobiologii BUP ujawnił, że najlepszymi antagonistami są szczepy z rodzaju *Bacillus*, wśród których najwyższy poziom antagonizmu, w stosunku do większości gatunków, ma szczep *B. amyloliquefaciens* 7IA3. Wydaje się sensowne łączyć na dłuższą metę najbardziej aktywnych szczepów z rodzajów *Bacillus* i *Pseudomonas* w jednym produkcie biologicznym.

Zauważono, że inwazyjne gatunki *A. mali* z jabłoni w odpowiedzi na działanie wszystkich antagonistów szybko zwiększają poziom konidiogenezy 1,7-16,5 razy na tle opóźnionej kolonii WWz, co odzwierciedla strategię przetrwania patogenu.

Analiza ISSR potwierdziła dość wysoki poziom polimorfizmu alternatywnego. Wybrano eksperymentalnie najlepszą temperaturę wyżarzania: dla prajmerów ISSR-09, ISSR-09A, ISSR-10, ISSR-24 to 54°C, a dla ISSR-17 to 55 °C.