

Практична робота 2

ТЕМА: «БАКТЕРІЇ ЯК БІОЛОГІЧНІ АГЕНТИ РЕГУЛЮВАННЯ ЧИСЕЛЬНОСТІ ШКІДЛИВИХ ОРГАНІЗМІВ В ОРГАНІЧНОМУ ВИРОБНИЦТВІ»

Мета роботи: ознайомитися із основними родами бактерій, які використовуються в біологічному регулюванні чисельності шкідливих організмів та викликаних ними захворювань комах.

Матеріали та обладнання: мікроскопи, готові препарати із різними формами бактерій, рикетсій, їхніми спороношеннями хворобами шкідливих організмів; салфетки, крапельниці з водою.

ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

Бактерії (*Bacteria*) за сучасною класифікацією входять у царство прокаріот, як окреме підцарство. З точки зору використання в біологічному захисті рослин інтерес становлять бактерії, що є збудниками хвороб шкідливих фітофагів і бур'янів, бактерії – антагоністи і гіперпаразити фітопатогенів. Крім того, бактерії відомі як продуценти різних форм метаболітів з антибіотичними, інсектицидними, антифідантними, репелентними та іншими властивостями.

Підцарство *Bacteria* включає відділи, кожний з яких ділиться на класи, порядки, родини тощо (табл. 1).

Вегетативні форми бактерій заокруглені, паличкоподібні (прямі або зігнуті), спіральноподібні або розгалужені.

Відділ 1 – *Gracilicutes* – (тонкошкірі бактерії) грамнегативні бактерії, що мають форму коків, паличок, ниток. Серед них є рухомі і нерухомі форми. У відділі виділено три класи (табл. 1), два з яких – скотобактерії і оксифотобактерії містять види, корисні для біологічного захисту рослин.

В класі скотобактерії є кілька родин, що становлять інтерес як гіперпаразити і антагоністи фітопатогенів, а також збудники хвороб безхребетних – фітофагів. Це родини *Spirillaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Rickettsiaceae*.

Бактерії, що входять до складу родини *Spirillaceae*, особливий інтерес становить рід *Bdellovibrio*, представники якого можуть бути облігатними паразитами бактерій.

Серед псевдомонад (родина *Pseudomonadaceae*) є види – антагоністи фітопатогенів і ентомопатогенні форми.

Рід *Pseudomonas* включає ентомопатогенні форми, а також форми, що лізують міцелій фітопатогенних грибів.

Таблиця 1

Основні групи бактерій, представники яких мають значення
для біометоду

Відділи	Класи	Родини	Роди і види
Gracilicutes	Scotobacteria	Spirillaceae	Bdellovibrio
		Pseudomonadaceae	Pseudomonas <i>P. aeruginosa</i> <i>P. fluorescens</i> <i>P. putida</i>
		Enterobacteriaceae	Salmonella <i>S. typhimurium</i> <i>S. enteritidis</i> <i>Enterobacter</i> <i>E. cloacae</i> <i>Serratia</i> <i>S. marcescens</i>
		Rickettsiaceae	Rickettsiella <i>R. melolonthae</i> <i>R. grylly</i> <i>R. eurygasteris</i>
	Anophotobacteria Oxyphotobacteria	Chroococcophyceae	Microcystis <i>M. aeruginosa</i> Anabaena <i>A. spiroides</i>
Firmicutes	Firmibacteria	Hormogoniophyceae	Micrococcus <i>M. oligonitrophillus</i>
		Micrococcaceae	Streptococcus <i>S. faecalis</i>
		Streptococcaceae	Bacillus <i>B. thuringiensis</i>
		Bacillaceae	Corynebacterium <i>C. okanaganae</i>
	Tallobacteria	Mycobacteriaceae	Actinomyces Mycoplasma
Fenericutes	Mollicutes	Actinomycetaceae Mycoplasmataceae	

Ентеробактерії (*Enterobacteriaceae*) – деякі види викликають захворювання шкідливих видів безхребетних і хребетних тварин. Серед них представники родів *Salmonella*, *Enterobacter*, *Serratia*.

Черевний тиф мишоподібних гризунів. Збудник його – бактерії *Salmonella enteritidis* Yaertner, має вигляд коротких і широких паличок із заокругленими кінцями, часто кокоподібної форми, джгутики перитрихіальні. Бактерія патогенна для щурів, мишей, ховрахів.

Риккетсії (родина *Rickettsiaceae*) тісно зв'язані з членистоногими, в організмі яких вони можуть знаходитися як симбіонти, в інших випадках членистоногі є переносниками риккетсій, що спричиняють небезпечні захворювання хребетних тварин і людини; деякі види є патогенами членистоногих. Представники біологічної групи риккетсій, що викликають риккетсіози комах, становлять інтерес як агенти мікробіологічної боротьби з шкідниками.

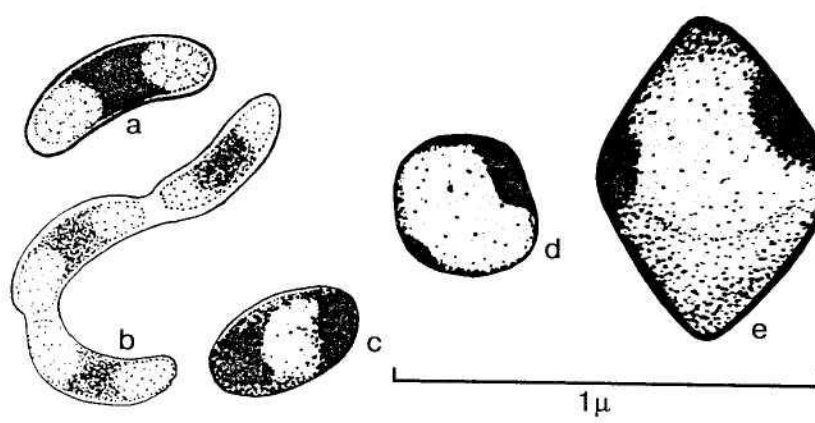


Рис. 1. Різні форми риккетсії *Rickettsiella melolonthae* Krieg:

а – поодинокі клітини; б – утворення ланцюжка; с, d, e – дегенерація клітин у кристалі.

Ентомопатогенні риккетсії уражують здебільшого жирове тіло комах і зумовлюють їх загибель.

Для захисту від шкідливих комах можуть бути використані такі види риккетсій: *Rickettsiella eurygastelis* – збудник риккетсіозу черепашки шкідливої – *Eurygaster integriceps*; *R. melolonthae* – збудник лортської хвороби хруща травневого – *Melolontha melolontha* та інших близьких до нього пластинчастовусих жуків, *R. popilliae* збудник синюхи хруща опалового японського *Popilla japonica*; *R. grylli* – збудник риккетозу кількох видів цвіркунів та деякі інші.

Серед двох інших класів відділу *Guracilicutes* певне значення для біологічного захисту рослин мають ціанобактерії, або синьо-зелені

водорості, виділені як порядок у класі оксифотобактерій. Ціанобактерії ряду *Microcystis* (родина *Microcystidaceae*) продукують токсини, що перспективні в плані використання для боротьби з окремими видами шкідливих комах.

Відділ II – *Firmicutes* – «міцношкірі» бактерії. До цього відділу належать грампозитивні бактерії у формі кокків, паличок або ниток, у тому числі й таких, що галузяться. У складі відділу два класи і кілька родин бактерій, що мають важливе значення для біометоду (табл. 1).

Бактерії родини ***Bacillaceae*** мають паличкоподібні клітини, частіше – грампозитивні. Джгутики розміщені паралельно або перетрихіально. Представники родини аероби, факультативні або облігатні анаероби. Найбільше практичне значення в родині *Bacillaceae* мають представники роду *Bacillus*, насамперед бактерія *Bacillus thuringiensis* (рис. 2).



Рис. 2. Бактерії *Bacillus thuringiensis*, забарвлені карболовим фуксином за Цилем (збільшення 90x10)

Більшість штамів не утворюють пігментів і здатні зброджувати глюкозу, трегалозу, фруктозу і гліцерин з утворенням кислот. Всі різновиди *Bacillus thuringiensis* мають інсектицидну активність, пов'язану зі здатністю виду продукувати ейдо- і ендотоксин. Ендотоксин має кристалічну структуру, форми його варіюють від ромбоподібної, кубічної, аморфної до округлої (рис. 3 а, б).



Рис. 3. Спори і кристали *Bacillus thuringiensis* різні за формою і розміром (збільшення 15000)

Варіанти *Bacillus thuringiensis* розрізняють за складом і властивостями інсектицидного ендотоксину. Ендотоксин фактично є неактивною формою токсину, тобто протоксином. Активізація його відбувається під дією травних ферментів комах.

Більшість варіантів *Bacillus thuringiensis* продукує токсини, згубні для гусені лускокрилих комах. Це такі варіанти як *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, var. *galleria*, var. *alesti* та інші. Відомий варіант, що продукує кристали, токсичні для личинок твердокрилих (*Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis*). Деякі серотипи *Bacillus thuringiensis* продукують термостабільний екзотоксин, що має широкий спектр дії на личинок комах і кліщів.

Рід *Bacillus* включає кілька видів бактерій, що спричиняють молочні хвороби у комах. Типовий представник таких бактерій – *Bacillus popilliae*.

Бактеріоз личинок японського жука – збудник *Bacillus popilliae* Dutcy. Бактерія є облигатним паразитом, що утворює ендотоксин. Збудник молочної хвороби личинок японського жука. Перебіг хвороби повільний. Личинки стають в'ялими, набувають молочно-білого кольору внаслідок просвічування крізь покриви тіла каламутно-білої гемолімфи, яка містить багато спорангіїв.

Ентомопатогенні форми включають **родину *Streptococcaceae***. Значну кількість видів стрептококів описано як ентомопатогенні форми. Серед них варто виділити *Streptococcus galleriae*, *S. pityocampa*, *S. albicans*, *S. mirabilis*, *S. faecalis* subsp. *liquefaciens*.

У класі талобактерій (*Tallobacteria*) становлять інтерес для біометоду родини *Mycrobacteriaceae*, *Actinomycetaceae*.

Мікробактерії мають вигляд прямих або викривлених паличок. Серед мікробактерій виділено вид *Corynebacteria okanaganae*, який викликає епідемічну хворобу у цикади *Okanagana rimosa*. Крім того, відома бактерія *Erysipelothris rhusiopathiae* subsp. *murisepticum*, що спричиняє епізоотії в природних популяціях пацюка водяного та інших гризунів.

Actinomyces lavenolulae продукує антибіотик фітобактеріоміцин, *Actinomyces streptomycini* – стрептоміцин і, крім того, актидіон, що має репелентні властивості щодо гризунів.

Відділ III – *Fenericutes* – об'єднує грамнегативні мікроорганізми, що не мають ригідної клітинної стінки. Відділ представлений одним класом мікоплазм – *Mollicutes*.

Як показали дослідження останніх років, мікоплазми мають важливе значення в інфекційній патології рослин, причому переносниками інфекту

є сисні членистоногі. В організмі комах паразит розмножується, накопичуючись здебільшого в слинних залозах. Інфіковані членистоногі можуть мати істотні відхилення від норми. Зокрема, у них скорочується тривалість життя, знижується плодючість самиць тощо

ХІД РОБОТИ

- Завдання:**
1. Засвоїти систематику бактерії та основну характеристику їх родин.
 2. Розглянути в мікроскоп, вивчити та замалювати основні ознаки бактерій та викликаних ними захворювань комах.

Зміст звіту: результати виконання завдання.

Контрольні питання

1. Яке значення мають бактерії у біологічному регулюванні чисельності шкідливих організмів в органічному виробництві?
2. Які види ентомопатогенних бактерій використовують для біологічного захисту рослин?
3. Які біологічні особливості *Bacillus thuringiensis* зумовлюють її інсектицидну активність?
4. Який механізм дії токсинів *Bacillus thuringiensis* на комах-шкідників?
5. Проти яких груп шкідливих комах застосовують бактеріальні біопрепарати?
6. Які чинники навколишнього середовища впливають на ефективність бактеріальних засобів захисту рослин?
7. Які переваги бактеріальних біопрепаратів порівняно з хімічними засобами захисту рослин?
8. Які особливості застосування бактеріальних біопрепаратів необхідно враховувати в системах захисту рослин за органічного виробництва?
9. Яку роль відіграють бактерії-антагоністи у пригніченні збудників хвороб рослин?
10. Як використання бактеріальних біологічних агентів сприяє збереженню біорізноманіття та екологічній стійкості органічних агроценозів?