

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра микробиологии и физиологии растений

**УЧАСТИЕ СИНАНТРОПНЫХ ВИДОВ МУРАВЬЕВ (FORMICIDAE) В
СОХРАНЕНИИ И ЦИРКУЛЯЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ НА
ТЕРРИТОРИИ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студентки 4 курса 422 группы
направления 06.03.01 Биология
биологического факультета
Тарасюк Анны Константиновны

Научный руководитель:

канд. биол. наук, доцент



А. М. Петерсон

08.06.2023

Зав. кафедрой:

док. биол. наук, профессор



С. А. Степанов

08.06.2023

Саратов 2023

Введение

Актуальность темы. Муравьи (Formicidae) – семейство насекомых отряда перепончатокрылых (Hymenoptera). Они представляют собой успешную и разнообразную группу насекомых, играющих значимую роль в различных экосистемах. Они облегчают аэрацию почвы, охотятся на травоядных насекомых, способствуют расселению тлей и т. д. [1].

В последние годы интерес к данной группе насекомых существенно возрос, что имеет несколько причин. Муравьи представляют интерес из-за их способности адаптироваться к изменяющемуся ландшафту и тесного соседства с человеком. Муравьи значимы как вредители гнезд и запасов других социальных насекомых. При этом во время вторжения они могут занести различные энтомопатогенные организмы. Муравьи могут испортить или же вовсе уничтожить запасы продуктов питания человека, деревянные конструкции. Некоторые виды рода *Formica* являются промежуточными хозяевами гельминтов – ланцетовидной двуустки (*Dicrocoelium dendriticum*) [1].

Особый интерес вызывает роль муравьёв в сохранении и распространении микроорганизмов, патогенных для растений, животных или человека. Доказано, что муравьи могут быть переносчиками возбудителей черной ножки свеклы [1], аспергиллёза, альтернариоза, фузариоза [2], холеры, брюшного тифа, дизентерии [3], туберкулеза [4].

Тем не менее, микробиота муравьёв и их гнёзд изучена ещё очень слабо. Большинство исследований в этой области были сосредоточены на муравьях-листорезах из родов *Atta* и *Acromyrmex*, которые обитают в Западном полушарии [5], есть работы, посвящённые *Lasius niger* [5, 6, 7]. Однако не менее важно выяснить, какие патогенные и фитопатогенные микроорганизмы могут распространять и другие виды муравьёв, обитающие рядом с человеком и сельскохозяйственными угодьями. Это позволит более эффективно осуществлять мероприятия по профилактике инфекционных заболеваний растений, животных и человека в каждом конкретном регионе.

Цель и задачи исследования. Целью данной работы стало изучение микробиоты синантропных муравьев Саратовской области, обитающих в жилых помещениях и на приусадебных участках.

Для реализации указанной цели были поставлены и решены следующие задачи:

1. Установить виды муравьев, обитание которых приурочено к жилью человека и придомовым территориям.
2. Выявить структуру микробиоты обнаруженных видов муравьев.
3. Определить доминирующие виды микробных ассоциаций в исследованных биологических объектах.
4. Установить пищевые потребности бактерий, способных сохраняться в организмах муравьев.
5. Выявить наличие в микробных ассоциациях муравьев патогенных и фитопатогенных видов.

Материал и методы исследования. Объектом исследования послужили 260 рабочих особей Formicidae, собранные в жилых помещениях и на придомовых территориях в 9 районах Саратовской области, а также в черте города Саратов. Насекомых отбирали в стерильные контейнеры, доставляли в лабораторию в течение 1–6 часов.

Из каждой точки сбора 5 рабочих особей муравьев помещали во флакон с 96%–ым этиловым спиртом. Маркировка флакона включала место и дату сбора насекомых. Идентификацию муравьев проводил сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский центр карантина растений» Константин Алексеевич Гребенников.

Для выявления микробиоты поверхности насекомых проводили посев методом отпечатка на плотные питательные среды.

Для выявления микробиоты внутренней среды насекомых поверхность муравьев обрабатывали в 96 %-ном этаноле 2 минуты, затем дважды промывали в стерильном физиологическом растворе. Обработанные объекты

гомогенизировали в физиологическом растворе и высевали по 0,1 мл на питательные среды.

Во всех микробиологических исследованиях мы использовали PDA, ГРМ, крахмало–аммиачный агар и среду Эндо. Посевы инкубировали при температуре +28° С в течение 3–7 суток. В дальнейшем производили подсчет числа колоний каждого штамма.

Для идентификации выделенных штаммов бактерий были изучены их морфологические, культуральные и биохимические свойства.

При проведении морфологических исследований штаммы окрашивали по Граму. Для выявления подвижности пользовались методом раздавленной капли.

Биохимическую активность определяли по следующим тестам: каталазная активность; образование ацетона; редукция нитратов; использование цитрата; гидролиз казеина, желатина, крахмала; образование кислоты из глюкозы, сахарозы, лактозы, маннита, арабинозы, мальтозы; рост на ГРМ–агаре при содержании в питательной среде 5% NaCl, 7% NaCl, 10% NaCl; рост на ГРМ–агаре при pH 5, pH 6, pH 9, pH 10; рост на ГРМ–агаре при 10°С, 43°С; фиксация молекулярного азота.

При изучении пищевых потребностей бактерий–ассоциантов муравьев были использованы различные органические и неорганические источники углерода и азота.

В качестве источников углерода рассматривались: желатин; казеин; твин 80, оливковое, подсолнечное, льняное, горчичное, рыжиковое масла; глюкоза, сахароза, лактоза, манноза, арабиноза, мальтоза; целлюлоза, пектин, крахмал.

В качестве источников азота рассматривались: KNO₃; NH₄Cl; N₂ (среда Эшби); желатин; казеин.

Все исследования проводились по стандартным методикам. Видовая принадлежность бактерий устанавливалась с использованием онлайн–системы идентификации ABIS и определителя Берджи. При установлении видовой принадлежности грибов по определителям Д. Саттон и Е. Ю. Благовещенской

изучали культуральные свойства изолятов и морфологию органов спороношения.

Индексы встречаемости рассчитывали как количество проб, в которых обнаружены бактерии или грибы данного вида, к общему количеству исследованных проб, выраженное в процентах.

Индексы общности видового состава микробиоты различных видов муравьёв рассчитывали как отношение видов, общих для двух сравниваемых групп, к общему количеству выделенных из них видов, выраженное в процентах (коэффициент Жаккара).

Структура и объем работы. Работа изложена на 56 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы и список использованных источников. Работа проиллюстрирована 14 таблицами и 10 рисунками. Список использованных источников включает в себя 72 наименований.

Основное содержание работы

В главе «Обзор литературы» представлена информация о существующих синантропных видах муравьев, об их микрофлоре, а также об их участии в распространении патогенных и фитопатогенных микроорганизмах.

В ходе проведения исследований из жилых помещений и придомовых территорий было отобрано 13 проб муравьев (по 20 экземпляров в каждой пробе), которые были отнесены к 7 видам: *Formica cinerea*, *F. rufa*, *Lasius niger*, *Messor structor*, *Monomorium pharaonis*, *Tetramorium chefketi*, *Tetramorium caespitum*.

В наших исследованиях большая часть муравьёв была отобрана на придомовых территориях. *Monomorium pharaonis* был найден только в жилых помещениях. *Tetramorium caespitum* обладал наиболее высокой экологической пластичностью и обнаруживался как в жилых помещениях, так и на придомовых территориях.

Из организмов насекомых было выделено 42 штамма бактерий и 18 штаммов грибов. Все выделенные микроорганизмы в ходе идентификации были отнесены к 12 видам бактерий и 8 видам грибов.

Практически все исследуемые бактерии относятся к филуму Firmicutes. Фирмикуты характеризуются грамположительной клеточной стенкой и низким содержанием Г–Ц пар в геноме. Все изолированные виды грибов относятся к четырем классам, из которых наиболее широко были представлены Eurotiomycetes и Dothideomycetes. Как на поверхности, так и во внутренней среде муравьев преобладали бактерии. При этом во внутренней среде грибы встречались несколько реже, чем на поверхности (доля грибов 11,4 % и 16,3 % соответственно).

Соотношение бактерий и грибов в организмах отдельных видов муравьев было различно. Среди рассмотренных муравьев *Lasius niger*, *Formica cinerea* и *Messor structor* выделяются своей богатой бактериальной микрофлорой. При этом они характеризуются низким содержанием грибов, что может говорить о защитных свойствах бактериальной микробиоты.

Большая часть ассоциантов относилась к спорообразующим бактериям. Это представители родов *Bacillus*, *Viridibacillus*, *Lysinibacillus*. Доля неспорообразующих бактерий была выше во внутренней среде насекомых, где она составила 44,4% по сравнению с 27% на поверхности муравьев.

Наибольшей экологической пластичностью обладали *B. psychrosaccharolyticus* и *Flaviflexus salsibiostraticola*, которые изолировались из организмов всех исследованных видов муравьев в количестве $10\text{--}10^3$ КОЕ/г. Эти бактерии характерны для почвы, откуда они могут попадать в организм насекомых. Помимо них широкое распространение имели почвенный вид *B. soli* и *Lactobacillus apis*, встречающийся в окружающей среде и часто выделяемый из пищеварительной системы насекомых.

Виды *Lasius niger* и *Formica cinerea*, для которых характерны мутуалистические отношения с тлей и почвенные муравейники, обладали наиболее разнообразным видовым составом бактерий – 10 и 9 видов соответственно.

Расчёт индексов общности видового состава бактериальной микробиоты муравьев показал, что наиболее отдаленная микробиота у *Messor structor* и

Monomorium pharaonis, а также у *Lasius niger* и *Monomorium pharaonis*. Остальные виды обладают примерно одинаковой общностью.

Мы проанализировали особенности микробиоты муравьев, собранных в жилых помещениях и на придомовых территориях. Последние имели более разнообразную микрофлору, что, вероятно, связано с их контактом с почвой. *B. psychrosaccharolyticus*, *B. soli*, *Lactobacillus apis* и *Flaviflexus salsibiostraticola* выделялись из всех мест обитания. Видовое разнообразие грибов было значительно ниже во внутренней среде насекомых по сравнению с поверхностью. На поверхности муравьёв наиболее широко был представлен род *Aspergillus*, из внутренней среды изолировались единичные виды *Aspergillus*, *Penicillium* и *Ulocladium*.

Наиболее разнообразный микокомплекс был отмечен у представителей *Tetramorium chefketi*. Наибольшей экологической пластичностью обладал распространенный почвенный гриб *A. candidus*, который был изолирован из 6 видов муравьёв.

Расчёт индексов общности видового состава грибной микробиоты муравьёв показал, что наиболее близки микробиоты *Lasius niger* и *Messor structor*. На поверхности и во внутренней среде этих видов встречался всего один вид – *Aspergillus candidus*. Наименьшей общностью с другими видами обладал *Formica cinerea*, предпочитающий селиться исключительно в сухих песчаных почвах.

Мы проанализировали особенности грибной микробиоты муравьев, собранных в жилых помещениях и на придомовых территориях. Грибы хоть и встречались реже, однако их видовое разнообразие было также выше у особей, отобранных на придомовых территориях, что, вероятно, связано с контактом с почвой. Можно выделить *Aspergillus candidus* и род *Ulocladium*, встречающиеся наиболее часто, и *Scopulariopsis brevicaulis*, обнаруженный только на тех муравьях, что были взяты из жилых помещений.

Организмы муравьёв являются весьма специфической средой обитания для микроорганизмов. Поэтому для понимания механизма адаптации бактерий

к обитанию в этой специфической экологической нише, мы исследовали пищевые потребности выделенных бактерий–доминантов.

Наиболее востребованными источниками углерода оказались глюкоза, Твин 80, казеин и желатин, самым предпочтительным источником азота – хлорид аммония.

В день муравей должен употребить примерно полмиллиграмма белка для нормального функционирования организма. Как известно, конечным продуктом распада белковой пищи является аммиак, который в дальнейшем способен образовывать соли. Следовательно, в организме муравья образуется довольно много продуктов распада белков, из–за чего бактериям удобно их использовать. Атмосферный азот же они применяют в качестве резервного источника азота.

Можно заметить, что бактерии–ассоцианты активно используют жиры. Вероятно, это связано с тем, что на поверхности муравьев содержится большое количество жиров (примерно 25%). Глюкоза же является наиболее простым для использования углеводом. К тому же, большой процент этого сахара содержится в пади тлей (31%), которую муравьи используют в качестве пищи.

Муравьи являются обычными обитателями садовых хозяйств, поэтому их способность участвовать в циркуляции фитопатогенных микроорганизмов представляет особый интерес. Мы выяснили, что исследованные нами муравьи являются переносчиками некоторых возбудителей заболеваний растений.

Среди фитопатогенных грибов были изолированы: *Penicillium chrysogenum*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Ulocladium*, *Rhizopus microsporus*. При этом наиболее значимую роль в сохранении фитопатогенов играл вид *Tetramorium chefketi*, на поверхности и во внутренней среде которого было наибольшее видовое разнообразие грибов.

Среди бактерий фитопатогенных видов выделено не было. Однако мы исследовали выделенные штаммы на наличие факторов фитопатогенности. Штаммы *Lactobacillus apis* и *Staphylococcus xylosus* проявили пектолитическую и целлюлолитическую активность и оказали фитотоксичное действие на тест–

растения. Это значит, что при определенных условиях данные штаммы могут вызывать у растений некоторые патологии.

Муравьи могут оказаться опасными соседями не только для растений, но и для человека из-за их способности переносить возбудителей заболеваний человека. Мы рассмотрели наличие условно-патогенных грибов и бактерий на поверхности и во внутренней среде исследованных экземпляров Formicidae.

Среди грибов, изолированных с муравьев, оказалось 3 вида условно патогенных для человека: *Aspergillus candidus*, *A. niger*, *Scopulariopsis brevicaulis*. Среди бактерий 4 вида: *Staphylococcus xylosus*, *St. cohnii*, *Bacillus cereus*, *B. pumilus*.

Наиболее часто условно-патогенные виды выделялись из организмов муравьев, отобранных из придомовых территорий, поступая на поверхность насекомого из воздуха или почвы.

Выводы

1. В жилых помещениях и на придомовых территориях в Саратовской области было обнаружено 7 видов муравьев: *Formica cinerea*, *Formica rufa*, *Lasius niger*, *Messor structor*, *Monomorium pharaonis*, *Tetramorium chefketi*, *Tetramorium caespitum*.

2. В микробиоте синантропных видов муравьев на территории Саратовской области выявлено 12 видов бактерий и 8 видов грибов. По видовому разнообразию и по количественному присутствию в организмах насекомых преобладают бактериальные ассоцианты.

3. Микробиота муравьев, отобранных на придомовых территориях, оказалась богаче по сравнению с микробиотой насекомых, отобранных в жилых помещениях (17 и 10 видов соответственно).

4. Основными доминантами микробиоты синантропных видов муравьев оказались *Bacillus psychrosaccharolyticus*, *B. soli* и *Flaviflexus salsibiostraticola*.

5. Из организмов муравьев были изолированы фитопатогенные грибы, вызывающие заболевания у растений или порчу продуктов: *Penicillium chrysogenum*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Ulocladium*,

Rhizopus microspores, а также 3 условно-патогенных для человека вида: *Aspergillus candidus*, *Aspergillus niger*, *Scopulariopsis brevicaulis*.

Список использованных источников

1. Решетов, А. А. Неоднозначная роль муравьев в экосистемах степной зоны Ростовской области / А. А. Решетов, К. С. Артахин // Защита и карантин растений. – 2017. – № 4. – С. 45.
2. Петерсон, А. М. Циркуляция фитопатогенных грибов в системе побегов яблонь – тли – муравьи / А. М. Петерсон, Х. Мохамед, И. Г. Литовченко // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье – 2016. – № 13. – С. 71–76.
3. Драполок, И. С. Муравьи в жилищах человека как возможные переносчики заболеваний / И. С. Драполок, А. М. Крицикер // В сборнике: Новой школе – здоровые дети. Материалы V Всероссийской научно-практической конференции. – 2018. – С. 52–54.
4. Ants' role (Hymenoptera: Formicidae) as potential vectors of mycobacteria dispersion / E. Roxo [et al.] // Arq. Inst. Biol. – 2010. – V. 77, №2. – P. 359–362.
5. Antimicrobial activity of microorganisms isolated from ant nests of *Lasius niger* / T. A. Efimenko [et al.] // Life – 2020. – T. 10, № 6. – P. 1–16.
6. Фенотипическая и филогенетическая характеристика актиномицетов, выделенных из муравьев *Lasius niger* и *Formica cunicularia* / Ю. В. Закалюкина [и др.] // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология – 2017. – Т. 72, № 1. – С. 16–23.
7. Конов, Е. А. Изучение адаптации и преадаптации муравьев *Lasius niger* к урбанизированной среде методами молекулярной экологии: автореф. дис.....канд. биол. наук / Е. А. Конов – Москва, 2018. – 189 с.