

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии

Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ Т. Г. Волова

« 18 » июня 2018 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Изучение особенностей возбудителя бурого цитоспорозного
некроза тополя микромицета *Cytospora chrysosperma* Pers. Fr.
в урбанистической среде (на примере г. Красноярска)

Руководитель _____ доцент, к.б.н. Е.Н. Афанасова

Консультант _____ с.н.с., к.б.н. В.А. Сенашова

Выпускник _____ С.В. Беседина

Красноярск 2018

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1. Грибы рода <i>CYTOSPORA</i> Ehrenb и их роль в патогенезе растений.....	6
1.2. Воздействие техногенных выбросов алюминиевого завода на окружающую среду	9
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	13
2.1. Объекты исследований.....	13
2.2. Получение спор <i>CYTOSPORA CHRYSOSPERMA</i> (PERS.) Fr.....	15
2.3. Выращивание <i>CYTOSPORA CHRYSOSPERMA</i> (PERS.) Fr. на плотных питательных средах	ОШИБКА! ЗАКЛАДКА НЕ ОПРЕДЕЛЕНА.
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	ОШИБКА! ЗАКЛАДКА НЕ ОПРЕДЕЛЕНА.
3.1. Распространенность <i>CYTOSPORA CHRYSOSPERMA</i> Pers. Fr. по районам города Красноярска	
3.2. Выделение фитопатогенного гриба <i>CYTOSPORA CHRYSOSPERMA</i> Per. Fr. в чистую культуру	
3.3. Рост фитопатогенного гриба <i>CYTOSPORA CHRYSOSPERMA</i> Per. F. на фторсодержащей питательной среде	
3.4. Морфометрические характеристики конидий <i>CYTOSPORA</i> <i>CHRYSOSPERMA</i> Per. F.	
ВЫВОДЫ.....	17
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	19

ВВЕДЕНИЕ

Урбанистические насаждения в городах с высокой плотностью населения имеют огромную ценность. Для города Красноярска, численность населения которого превышает один миллион, наличие «зеленых» зон является естественной потребностью. Для комфортного проживания необходимо развитие средовосстанавливающей системы, которая в определенных пределах регулировала бы состав воздуха, степень его загрязненности и снижала развитие шумового фактора. В этой связи приоритетными становятся задачи интенсивного озеленения городской среды и поддержание на высоком уровне состояния растений в условиях города [26].

При озеленении городских ландшафтов крайне высокую распространенность имеет тополь. Только на территории города Красноярска содержится достаточное количество насаждений, представленных *Populus balsamifera* L. (тополь бальзамический).

Одним из наиболее распространенных заболеваний представителей *Populus* sp., а также остальных растений семейства ивовых является бурый цитоспоровый некроз, вызываемый несовершенным грибом *Cytospora chrysosperma* Pers. Fr. (телеоморфой является аскомицет *Valsa sordida* Nitchke). Патоген, развиваясь в тканях коры, вызывает ее отмирание [10, 11, 41]. Подобное вмешательство в конечном итоге ведет к ослаблению и медленной гибели насаждений, что является серьезной проблемой для ряда стран Среднего Востока, Восточной Азии, Африки и Австралии [55, 57].

Усиление деструктивных (негативных) факторов среды способствует ускоренному протеканию патологического процесса, что может вызывать массовую гибель насаждений. Цитоспороз возникает на фоне предварительного ослабления растений, причинами которого могут быть

неблагоприятные почвенно-климатические условия среды, а также повышенная загрязненность воздуха [24, 37, 41]. Первичное ослабление деревьев главным образом связано со степенью загрязнения среды [24]. В условиях Красноярска наиболее распространеными поллютантами являются соединения фтора, что связано с деятельностью Красноярского алюминиевого завода (КрАЗ) [14]. Разные уровни загрязнения почв и воздуха фтором по-разному влияют на степень загрязнения различных вегетативных органов растений [21, 35], что вполне может привести к ослаблению иммунитета растительного организма. Таким образом, логично предположить, что поражаемость тополей *C. chrysosperma*, произрастающих в зоне выбросов КрАЗа будет выше, чем у деревьев из относительно благополучных районов города. Однако некоторые патогенные грибы очень чувствительны к наличию техногенных поллютантов [33] и, возможно, для возбудителя бурого цитоспороза деятельность КрАЗа является стрессирующим фактором.

Знание особенностей развития патогенного организма позволяет выбрать наиболее эффективные меры борьбы с ним. Для изучения развития любого микроорганизма необходимо наличие чистой культуры, не привязанной к фазам жизни растения-хозяина. Создание музейной культуры предполагает определение наиболее оптимальных условий для эффективно культивирования любого микроорганизма с учетом влияния внешних факторов среды и индивидуальных потребностей в органических и неорганических веществах, которые присутствуют в питательных средах [28, 45].

Исходя из выше изложенного, целью данной работы являлось изучение особенностей развития фитопатогенного гриба *Cytospora chrysosperma* Pers. Fr. в урбанистической среде на примере г. Красноярска.

В задачи исследования входило:

1. Провести оценку зараженности тополевых насаждений возбудителем

бурого цитоспорового некроза на территории г. Красноярска.

2. Оценить возможность выделения фитопатогенного гриба *Cytospora chrysosperma* Pers Fr. в чистую культуру.
3. Определить способности роста изолятов патогена на фторсодержащих средах в лабораторных условиях.
4. Изучить морфометрические характеристики спор исследуемого микромицета, сформированные при различных условиях.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Грибы рода *Cytospora* Ehrenb и их роль в патогенезе растений

Грибы рода *Cytospora* Ehrenb входят в цикл развития сумчатых грибов рода *Valsa* Fr. и представляют собой конидиальную стадию развития *Valsa* spp.

Развиваясь в тканях коры, представители *Cytospora* spp. формируют хорошо выраженную строму, которую можно разделить на два типа: многокамерную, расчлененную на настоящие камеры – пикниды, каждые из которых имеют свои обособленные стенки; и простую (ложномногокамерную), разделенную на камеры с сосковидным устьицем. Существует две части стромы: эктострома (верхняя часть), образующаяся вокруг устьица и эндострома (нижняя часть), погруженная в субстрат [9]. Верхняя часть имеет более твердую консистенцию и обладает неярко выраженной окраской, нежели нижняя часть стромы. Именно эктострома способствует разрыву поверхностных слоев ткани растения-хозяина (эпидермиса или перидермы), обеспечивая выход конидий, которые образуются на конидиеносцах разной формы: от простых не ветвящихся до кустистых. Сами конидии одноклеточные, изогнутые, многочисленные – изначально погружены в слизь, а затем выходят на поверхность субстрата студенистыми ярко окрашенными тяжами или капельками, которые застывают на воздухе в виде спиралей (рисунок 1). Пигменты, выделяемые грибами, защищают конидии от губительного действия солнечных лучей и дают кремовый, бледно-желтый, оранжево-красный, темно-красный или черный окрас. Кроме пигментов в слизи данных пикнидиальных грибов обнаружены моносахариды, полисахариды, аминокислоты, которые служат

прорастающим конидиям питательным субстратом, и вода [46]. Слизь облегчает распространение конидий потоками



Рисунок 1 – Спороношение *Cytospora* sp. на стволе растения-хозяина
(источник – интернет-ресурс)

воздуха: слипшиеся в небольшие комочки, подсохшие, они легче подхватываются воздушными течениями и переносятся на другие деревья. При распространении с каплями дождя многие компоненты слизи быстро растворяются в воде, и этот раствор тоже может выступать питательным субстратом для прорастающих спор. Слизь облегчает и разнос конидий насекомыми, обитающими на больных деревьях. Выявлена связь между видами гриба и насекомыми-переносчиками [16]. Среди микологов и фитопатологов возрос интерес к изучению морфологических характеристик грибов рода *Cytospora* в связи с необходимостью создания четкой системы идентификации с более выраженным морфологическим описанием [53, 54].

Представители *Cytospora* spp. по образу жизни относятся к группе факультативных сапротрофов (полупаразитов). Данные организмы обычно ведут паразитический образ жизни, развиваясь в течение вегетации на живых растениях и образуя на них бесполые спороношения. Однако заканчивают свой цикл развития как сапротрофы: половое спороношение формируется на отмерших частях растений [36]. Заболевания, вызываемые данными грибами, относятся к некрозам. Некрозные болезни вызывают поражение коры, луба, камбия и наружных слоев древесины. Многие древесные и кустарниковые

виды растений поражаются грибами рода из *Cytospora*, наибольший ущерб сельскому хозяйству (от 50 до 100%) приносит цитоспороз плодовых (особенно косточковых), наблюдаемый один раз в 2 – 3 года в районах интенсивного плодоводства на Северном Кавказе, в наиболее влажных районах Закавказья, в Молдавии, на Украине (Крым), в Восточной Грузии и Армении, в южной части Краснодарского и Ставропольского краев, республике Адыгея, Карачаево-Черкесии, Литве, республиках Средней Азии и Казахстане. [2, 6, 12, 15, 18, 20, 22, 27, 29, 32, 39, 40, 48, 48, 50]. Относительно недавно китайскими учеными был выявлен и описан новый вид гриба *Cytospora sophoricola* C.M. Tian & X.L. Fan на софоре японской *Styphnolobium japonicum* (L.) Schott. [64]. Данное растение активно выращивается в Китае, Европе, Северной Америке и Южной Африке для озеленения, получения фармакологического сырья, а также в качестве источника древесины и меда.

Cytospora chrysosperma Pers. Fr. (цитоспора златосемянная) является возбудителем бурого цитоспорового некроза/бурого цитоспороза у деревьев рода *Populus* L. и других представителей семейства ивовых (Salicaceae Mirb.).

Болезнь может вызывать массовую гибель тополей и особенно часто встречается в молодых лесополосах и различных городских посадках. Развитие цитоспороза происходит в широком температурном диапазоне (от 10 до 30°C) и при относительной влажности воздуха 60, 95% [32, 50]. Заболевание возникает на фоне предварительного ослабления насаждений, причинами которого могут быть неблагоприятные почвенно-климатические условия среды: недостаток влаги (засуха) или длительное переувлажнение, чрезмерное воздействие ультрафиолетового излучения, переохлаждение, нарушение баланса питательных веществ в почве и повышенная загрязненность воздуха [24]. Наиболее важным фактором снижения устойчивости тополей к заболеванию является уменьшение водоснабжения, которое при прочих условиях зависит от плотности размещения деревьев.

Также неблагоприятным фактором выступает смещение разных культур деревьев на одной территории, по причине их совместного использования почвы и борьбы за влагу [17].

Проникая в ткани дерева через различного рода повреждения у основания ветвей, гриб выделяет токсины, которые способствуют отмиранию коры дерева. Образование стромы и развитие спор происходит именно в коре, так как гриб не имеет ферментов, расщепляющих целлюлозу, а значит, неспособен развиваться в древесине. Заражение конидиями происходит ранней весной или осенью. Пораженные деревья усыхают еще весной до распускания почек. Гриб перезимовывает в виде пикнид на усохших частях растений. Во влажную погоду из них в отмершей коре выделяются нити склеенных между собой конидий, которые, при наступлении благоприятных условий, снова распространяются на новый биологический субстрат [22, 2, 29]. Распространение гриба возможно также с помощью посадочного материала, где гриб может присутствовать в здоровых по внешнему виду побегах в латентном (скрытом) виде [17].

1.2. Воздействие техногенных выбросов алюминиевого завода на окружающую среду

Промышленные предприятия города Красноярска выбрасывают в атмосферу большое количество токсичных веществ разных классов, опасных для жизни всего живого. Одним из наиболее вредоносных токсиканитов является фтор [14], выбрасываемый Красноярским алюминиевым заводом (ЗАО «КРАЗ») в крупных размерах. В городе Красноярске загрязнение фтором имеет форму регионального поля, вытянутого по розе ветров с юго-запада на северо-восток на 26 км [30, 44]. Однако в последние годы была отмечена тенденция роста ветров северо-восточных румбов (со стороны КрАЗА), доля которых возросла с 4,5% в начале 70-х годов до 10,8% в 2002 г.

Согласно последним данным, завод имеет 372 стационарных источника выбросов загрязняющих веществ, из которых только 144 оснащены газоочистными установками, [5] и ежегодно выбрасывает в атмосферу около 2,6 тыс. т фтористого водорода и около 3,6 тыс. т твёрдых фторидов [23, 34]. В 1999 - 2003 годах среднегодовое количество выбросов фторидов КРАЗом составило 1700 тонн, в 2004 - 2008 годах, в связи с увеличением производства алюминия, - 2429 тонн, что составляет 95 % от количества фтора, выбрасываемого всеми промышленными предприятиями города [21]. О высокой загрязняющей способности говорят данные, что при производстве одной тонны алюминия выбрасывается 20 - 40 кг фтора, обладающего наиболее высокой токсичностью для фотосинтезирующих организмов [31]. Выбросы фтора не только ухудшают состояние атмосферного воздуха, но и отрицательно влияют на экосистему почв, выводя их из сельскохозяйственного оборота и в принципе из биологического равновесия. Для установления влияния алюминиевого завода «IRALCO» в Иране на атмосферный воздух, почву и растительность было проведено исследование, результаты которого показали, что пыльца, собранная с нескольких разновидностей боба на территории, подверженной загрязнению, явилась биоиндикатором загрязнения почвы и воздуха. Также была проведена сравнительная характеристика с растениями, находящимися на удаленной от алюминиевого завода территории. Из чего следует вывод, что частицы пыли предоставляют существенную информацию о биологическом воздействии загрязнения [62].

Обладая высокой химической активностью, фтор и его соединения способны проникать из загрязненных сред (воздуха, почвы) во все органы древесного растения через устьица и кутикулу листьев, кору ствола и ветвей, а также через корневую систему и накапливаться в них в значительных количествах. Несмотря на отсутствие большой необходимости фтора для растения, неспособного к эффективной детоксикации фторидов [61], более

активно организм поглощает их аэральным путем из атмосферы - данная способность определяется его хорошей растворимостью в воде [38]. В случае одновременного загрязнения воздуха и почвы соединениями фтора первично растениями осуществляется поглощение вещества из воздуха [19]. Поступление фторидов в организм растений через корни наблюдается преимущественно на очень загрязненных почвах на расстоянии до 3-5 км от крупных техногенных источников фторсодержащих выбросов. Также известна способность фторидов в сочетании с другими поллютантами (диоксидом серы, хлором) синергически резко усиливать токсическое влияние на древесные растения [35].

В настоящее время признано, что по влиянию на растительный покров соединения фтора являются одними из наиболее токсичных веществ. Они поступают в атмосферу в основном при производстве первичного алюминия, минеральных удобрений, стекла, фторорганических соединений и при разложении фторидных веществ [13], а их правильная утилизация, как факельных выбросов, так и фонарных оставляет желать лучшего. При производстве алюминия электролизом по сводным данным происходит хроническое загрязнение окружающей среды фтористыми соединениями, оксидами углерода и серы, соединениями ванадия, хрома, никеля, полициклическими ароматическими углеводородами, часть из которых обладает мутагенной и канцерогенной активностью [1].

Радиус осаждения от алюминиевого завода приблизительно равен 15 – 20 км, на которые приходится не более 15% общего количества фтора, а газообразные соединения, содержащие мельчайшие частицы могут быть перенесены на расстояние более 50 км. Как правило, вблизи заводов всегда располагается лесное сообщество, которое берет на себя оградительную функцию от вредных химических выбросов, но при длительном воздействии такое негативное влияние несет весьма губительный характер и накопление

фторидов в древесной ткани происходит в 30 – 40 раз быстрее, если речь идет о газообразном или водорастворимом фторе [1].

Глава 2. Объекты и методы исследования

2.1. Объекты исследований

Объектом данного исследования является несовершенный гриб *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr. (телеоморфой является сумчатый гриб *Valsa sordida* Nitschke), вызывающий бурый цитоспорозовый некроз тополя.

Систематическое положение возбудителя бурого цитоспорозового некроза

Царство	Fungi
Отдел	Ascomycota
Класс	Sordariomycetes
Порядок	Diaporthales
Семейство	Valsaceae
Род	<i>Valsa</i>
Вид	<i>V. sordida</i>
Биномен	<i>Valsa sordida</i> Nitschke (1870)
Несовершенная стадия	<i>Cytospora chrysosperma</i> (Pers.) Fr. (1823)

Материал исследования представлен черенками тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.). При оценке зараженности тополевых насаждений данным патогеном был проведен сбор материала с территории всех административных районов города. В каждом районе были

выбраны, по крайней мере, две улицы (при этом учитывалось направление господствующих ветров и наличие тополей). Черенки нарезались не менее чем с десяти деревьев. При сравнении выборок с различной повторностью использовали формулу 1:

$$t = \left| \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}} \right| \quad (1)$$

где M_1 – средняя арифметическая 1-го вариационного ряда

M_2 – средняя арифметическая 2-го вариационного ряда

m_1 – ошибка репрезентативности 1-го вариационного ряда

m_2 – ошибка репрезентативности 2-го вариационного ряда [3, 25]

Число степени свободы находили по формуле 2:

$$f = (n_1 + n_2) - 2$$

(2)

где f – число степеней свободы

n_1 – количество 1-го вариационного ряда

n_2 – количество 2-го вариационного ряда [3, 25] (приложение 1, 2)

Для пробного культивирования черенки были получены с тополей, произрастающих в Кировском районе г. Красноярска.

При оценке способности роста гриба *Cytospora chrysosperma* на фторсодержащих средах для получения споровой массы использовали черенки с маточных деревьев, подвергавшихся действию КРАЗа (Советский район, прилежащие территории предприятия). Контролем служили растения, удаленные от источника фтористого загрязнения (Свердловский район, поселок Водники, ул. Алеши Тимошенкова).

2.2. Получение спор *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr.

Для получения (выгонки) пикнид за основу был взят метод парафинирования [11, с.31]. Для этого 2-х летние побеги тополя бальзамического (*P. balsamifera*) нарезали на черенки длиной 10-12 см, которые были тщательно вымыты и высушены. Используя пинцет, каждый черенок последовательно окунали в 96% этиловый спирт на 1-2 секунды, затем в расплавленный парафин (рисунок 2). Готовые черенки переложили в чистый контейнер, накрыли стерильной марлей. Емкость с черенками поместили в относительно темное место с температурой в пределах 16-22 С°. Для поддержания необходимой влажности сбрызгивали охлажденной кипяченой водой по мере необходимости. На рисунке 3 представлен внешний вид сформировавшихся пикнид и споровых тяжей патогена.



Рисунок 2 – Внешний вид черенков тополя бальзамического, подвергшихся парафинированию (фото Бесединой С.В.)

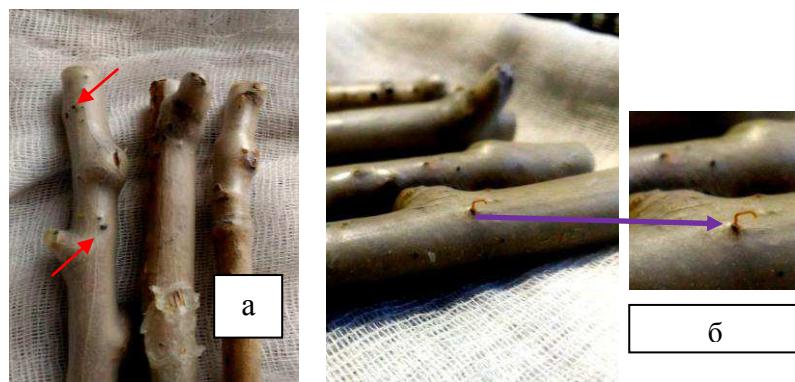


Рисунок 3 – Внешний вид черенков тополя бальзамического с пикнидами и споровыми тяжами: а – пикниды *Cytospora chrysosperma* в виде черных шаровидных тел; б – споровый тяж *C. chrysosperma*, (фото Бесединой С. В.)

РЕЗУЛЬТАТЫ

[Изъято 19 страниц]

ВЫВОДЫ

1. Наибольшее количество пикнид патогена обнаружено на тополях Железнодорожного и Свердловского районов: плотность пикнид на 1 см² составила 0,31 шт. и 0,29 шт. соответственно. Насаждения Советского, Кировского, Ленинского и Октябрьского районов заражены в меньшей степени. При этом в Советском районе (наиболее подверженному воздействию КРАЗа) доля жизнеспособных пикнид оказалась меньшей по городу, а размер конидий достоверно меньше по сравнению с показателями из других районов города.

2. Показано, что фитопатогенный гриб *Cytospora chrysosperma* Pers. Fr. способен расти на плотных питательных средах. Микромицет проходит стадии развития вегетативного мицелия, формирования пикнид и спороношения только на органических средах, при этом оптимальной является среда на основе пивного сусла с добавлением тополевого отвара. Выявлено, что повышенная температура (26°C) способствует росту вегетативного мицелия, но подавляет спороношение. Температурный режим в диапазоне 20 °C оптимален для закладки пикнид и образования конидий.

3. Установлено, что в лабораторных условиях возможно культивирование *Cytospora chrysosperma* Pers. Fr. на фторсодержащих средах, однако происходит торможение процессов формирования пикнид и спороношения. Предельно допустимая концентрация фторида натрия, при которой возможен вегетативный рост – 0,15%. Чем ниже концентрация соли NaF в питательной среде, тем активнее и в большем объеме происходит прирост вегетативной массы.

4. Выявлено, что размер спор патогена с природного материала достоверно отличается от спор, полученных при выращивании в лабораторных условиях. Размеры последних соответствуют литературным источникам ($3,5\text{-}6 \times 1\text{-}2$ мкм), в то время как длина и ширина конидий с черенков превышают эти значения ($10,53 \times 3,26$ мкм).

Увеличение размеров мы считаем компенсационным явлением по отношению к агрессивной городской среде.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аншиц, А. Г. Экологические аспекты производства алюминия электролизом. Аналитический обзор / А. Г. Аншиц, П. В. Поляков, А. В. Кучеренко. – Новосибирск : Изд. ГПНТБ СО АН СССР, 1991.
2. Базерашвили, Л. Г. Комплексы грибов, сопутствующие цитоспорозному усыханию персика и абрикоса, и экологическое обоснование мер борьбы с ними / Л. Г. Базерашвили – Тбилиси : Госкомиздат Груз. ССР, 1985. – 24 с.
3. Бейли, Н. Статистические методы в биологии / Бейли Н. – Изд. : Мир, 1959. – 272 с.
4. Бекер, М. Е. Введение в биотехнологию. / Бекер М. Е. – Изд. : «Пищевая промышленность», 1978. – 248 с.
5. Берлянд, М. Е. Методика расчета концентраций в атмосферном воздухе вредных веществ, содержащихся в выбросах предприятий. ОНД – 86 / М. Е. Берлянд, Е. Л. Генрихович. – Ленинград : Госкомгтдромет, 1987. – 17 с.
6. Бызова, З. М. Флора споровых растений Казахстана. Несовершенные грибы - *Fungi imperfecti (Deuteromycetes)* т. 5, ч. 2. / З. М. Бызова, М. П. Васягина. – Алма – Ата : Наука, 1967. – 382 с.
7. Возняковская, Ю. М. Эпифитная микрофлора растений. Использование микроорганизмов в сельском хозяйстве / Ю. М. Возняковская. – В кн.: М.–Л.: Сельхозиздат, 1962. – 155–161 с.
8. Возняковская, Ю. М. Микрофлора растений и урожай / Ю. М. Возняковская. – Л.: Колос, 1969. – 240 с.

9. Гарibova, L. V. Основы микологии: Морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов. Учебное пособие / L.B. Гарibova, С.Н. Лекомцева. – Москва : Товарищество научных изданий КМК, 2005. – 220 с.
10. Гвртишвили, M. N. Грибы рода *Cytospora* Fr. в СССР : монография / Гвртишвили M. N. – Тбилиси : Издательство Сабчота Сакартвело, 1982. –215 с.
11. Гвртишвили, M. N. Предварительные результаты исследования внешне здоровых ветвей тополей на зараженность грибами рода *Cytospora* Fr. / M. N. Гвртишвили, Н. О. Джибгашвили. – Тбилиси : 41 ссылка, 1982. 169 – 173 с.
12. Гербаневская, Е. В. Природа усыхания косточковых плодовых пород : сборник научных фитопатологических работ Среднеазиатского филиала ВИЗР / Гербаневская Е. В. – Ташкент: ВИЗР, 1958. – 23 – 30 с.
13. Громов, О. Б. К вопросу обезвреживания газовых выбросов заводов по производству алюминия / О. Б. Громов, В. К. Прокудин. – Химическая технология. Т. 9. №7
14. Давыдова, Н. Д. Проблемы загрязнения природной среды Сибири / Н. Д. Давыдова. – Успехи современного естествознания, 2014. № 5-1. – 186 – 189 с.
15. Добровольскене, А. Биологические исследования цитоспороза (возбудитель *Cytospora capitata* Sacc. et Schulz.) плодовых деревьев в Литовской ССР / А. Добровольскене. – Интенсификация производства сельского хозяйства. Научные труды, т. 16, вып. 2 (41). – Вильнюс : Минтис, 1969. – 48 с.
16. Дьякова, Ю.Т. Фундаментальная фитопатология / Ю. Т. Дьякова. – М.: КРАСАНД, 2012. – 512 с.

17. Ибрагимов, И. А. Цитоспороз тополей в лесных культурах Башкирской АССР и меры борьбы с ним : Ав.дис.к.бм / И. А. Ибрагимов. – Харьков : 1965. – 22 с.
18. Исин, М. М. Специализация некоторых видов *Cytospora* на плодово-ягодных и древесно-кустарниковых породах. Защита растений от вредителей и болезней / М. М. Исин : Мин. с/х СССР, Литовская с/х Академия, Евлага № 8, 1981. – 76 – 78 с.
19. Кабата-Пендиас, А. Микроэлементы в почвах и растениях / А. Кабата-Пендиас, Л. Пендиас. – М., 1989. – 439 с.
20. Константинов, Л. К. Цитоспороз плодовых / Л. К. Константинов, В. С. Шкреба. – М. : Защита растений. Колос, 1972. – 60 с.
21. Косицына, А. А. Влияние водорастворимого фтора на загрязнение почв и растений : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук, 2009. – 19 с.
22. Кропис, Э.П. Инфекционное усыхание плодовых косточковых деревьев и меры борьбы с ним / Э. П. Кропис. – Кишинев : Упр-е с-х науки МСХ МССР, Молдавская станция ВИЗР, 1958. – 11 с.
23. Крупкин, П. И. Пути рационального использования почв, загрязненных фтором / П. И. Крупкин. – Агрохимия, №3, 2005. – 79 – 87 с.
24. Кузьмичев, Е. П. Справочник Болезни и вредители в лесах России. Том 1. Болезни древесных растений. / Е. П. Кузьмичев, Э. С. Соколова, Е. Г. Мозолевская. – М : ВНИИЛМ, 2004. – 129 с.
25. Лакин, Г. Ф. Биометрия : учебное пособие для университетов и педагогических институтов. – М. : Высшая школа, 1973 – 343 с.
26. Макарова, Т. А. Некрозо-раковые болезни растений и меры борьбы с ними в насаждениях города Сургута / Т. А. Макарова, П. Н. Макаров. – Вестник НВГУ №2, 2016. – 81 – 87 с.

27. Минкевич, И. И. О паразитизме грибов рода *Cytospora* на косточковых плодовых деревьях / И. И. Минкевич, О.Н. Барсукова, Ю.Ф. Кулибаба. – М. : Бюлл. Гл. ботан. сада, вып. 80. Наука, 1971. – 89 – 93 с.
28. Нетрусов, А. И. Практикум по микробиологии: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений. ; под ред. А. И. Нетруса / А. И. Нетрусов, М. А. Егорова, Л. М. Захарчук. – М. : Изд. центр Академия, 2005. – 608с.
29. Осташева, Н. А. Цитоспороз плодовых / Н. А. Осташева. – М. : Защита растений, № 9, Агропромиздат, 1987. – 34 с.
30. Павлов, И. Н. Древесные растения в условиях техногенного загрязнения / И. Н. Павлов. – Улан-Удэ : БНЦ СО РАН, 2005. – 370 с.
31. Павлов, И. Н. Изучение сорбции фтора в листьях древесных растений. – Химия растительного сырья №2, 1998, – 37 – 43 с.
32. Петрушова, Н. И. Роль грибов рода *Cytospora* Fr. в усыхании косточковых культур в Крыму / Н. И. Петрушова, Г. В. Овчаренко, А. Ф. Евмененко. – Микология и фитопатология, т. 9, вып. 4, 1975. – 315 – 319 с.
33. Плешанов, А. С. Микромицеты пихты сибирской и атмосферное загрязнение лесов / А. С. Плешанов, Т. И. Морозова ; Рос. акад. наук, Сиб. отд-ние, Сибирский ин-т физиол. И биохим. растений. – Новосибирск: Академическое издательство «Гео», 2009. – 115 с.
34. Полонский, В. И. Фторидное загрязнение почвы и фиторемедиация (обзор) / В. И. Полонский, Д. Е. Полонская. – С.-х. биол., Сельхозбиология №1, 2013. – 3 – 14 с.
35. Рожков, А. С. Действие фторсодержащих эмиссий на хвойные деревья / А.С. Рожков, Т.А. Михайлова. – Новосибирск : Наука. Сиб. отд-ние, 1989. – 159 с.
36. Семенкова, И. Г. Лесная фитопатология: учебник для вузов – 2-е изд., перераб. и доп. / И. Г. Семенкова, Э.С. Соколова. – М. : Экология, 1992. – 345 с.

37. Семенова, М. А. Мониторинг состояния молодых посадок Москвы и распространение в них некрозно-раковых болезней (по данным обследования в 2003 г.). – Лесной вестник 2, 2006. – 148 – 153 с.
38. Смит, У. Поглощение загрязняющих веществ растениями. Загрязнение воздуха и жизнь растений. – Л. : 1988. – 461 – 499 с.
39. Смольякова, В. М. Биологические особенности гриба возбудителя цитоспороза косточковых пород. Защита плодово-ягодных культур и винограда от вредителей и болезней в зоне Сев. Кавказа / В. Н. Смольякова. – Новочеркасск : ВНИИ виноградарства и виноделия, 1983. – 3 – 8 с.
40. Смольякова, В. М. Болезни плодовых пород юга России. – Краснодар: Весть, 2000. – 192 с.
41. Соколова, Э. С. Цитоспороз в зеленых насаждениях Москвы. – Москва : МГУЛ, Лестной вестник 2/99. – 57 – 62 с.
42. Сперанская, Н. Ю. Состав и жизненное состояние древесных насаждений г. Барнаула: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Барнаул: Алтайский гос. ун-т, 2007. – 26 с.
43. Стайкова, Т. Б. Анализ выбросов загрязняющих веществ в атмосферу ОАО «КРАСНОЯРСКИЙ АЛЮМИНИЕВЫЙ ЗАВОД» / Т. Б. Стайкова, Е. Н. Окладникова. – Актуальные проблемы авиации и космонавтики. Техн. науки, 2011. – 260 – 262 с.
44. Танделов, Ю. П. Фтор в системе почва–растение. – 2-е изд., перераб. и доп. / Ю.П. Танделов ; под ред. акад. РАСХН В.Г. Минеева. – Красноярск, 2012. – 146 с.
45. Федоров, М. В. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. Второе издание. – Москва – 1951. – 280 с.
46. Филиппова, И. А. Грибы против рака. – СПб. : Питер, 2014. – 224 с.
47. Хлебопрос, Р. Г. Красноярск. Экологические очерки: монография / Р. Г. Хлебопрос, О. В. Тасейко, Ю. Д. Иванова. – Красноярск: Сибирский федеральный университет, 2012. – 130 с.

48. Хохряков, М. К. Определитель болезней растений / М. К. Хохряков, Т. Л. Доброзракова, К. М. Степанов. – СПб : Лань, 2003. – 592 с.
49. Цакадзе, Т. К. Изучению паразитизма *Cytospora leucostoma* (Pers.) Sacc. на косточковых культурах ; Тр. Инст-та защиты растений, т. 2. – Тбилиси : Академия наук Груз. ССР, 1956. – 209 – 219 с.
50. Черепкова, Н. А. Поражение плодовых культур цитоспорозом в субтропиках Краснодарского края /Н. А. Черепкова.– Л. : Бюлл. ВИЗР, 1977.
51. Чиндяева, Л. Н. Анализ арборифлоры урбанизированных районов Сибири / Л. Н. Чиндяева, Е. В. Банаев, О. Н. Потемкин. – Сибирский экологический журнал № 3, 2007. – 401 – 408 с.
52. Чиндяева, Л. Н. Особенности использования древесных растений в зеленом строительстве в крупных городах Сибири (на примере Новосибирска) / Л. Н. Чиндяева, Е. В. Банаев, О. Н. Потемкин. – М.: Экология большого города. Альманах Прима-М, 2002. – 113-115 с.
53. Adams G. C., Phylogenetic relationships and morphology of *Cytospora* species and related eleomorphs (Ascomycota, Diaporthales, Valsaceae) from Eucalyptus / G. C Adams, M. J Wingfield, R. Common. – Stud Mycol, 2005.
54. Adams G. C., *Cytospora* species (Ascomycota, Diaporthales, Valsaceae), introduced and native pathogens of trees in South Africa / G. C Adams, J. Roux, M. J Wingfield. – Australas Plant Pathol, 2006.
55. Aktaş Hüseyin, *Cytospora chrysosperma* “PERS” FR.’nin in-vitro koşullarında morfolojik özelliklerinin ve en uygun inokulasyon yönteminin belirlenmesi / Hüseyin Aktaş, Ziya Şimşek. – Çankırı karatekin üniversitesi orman fakültesi çankırı, bartın orman fakültesi dergisi, 2010.
56. Burks Susan, *Cytospora* canker development on aspen in response to nitrogen fertilization / Susan Burks, William R. Jacobi, Gary A. McIntyr. – Journal of Arboriculture, 1998.

57. Chen M. M., Forest fungi phytogeography, forest fungi phytogeography of China, North America, and Siberia and international quarantine of tree pathogens. – Sacramento, California, USA, 2002.
58. Deacon J. W., Modern Mycology, third edition. – Wiley, 1997. – 303 p.
59. Ji S. D., Heterologous expression of the *Hsp24* from *Trichoderma asperellum* improves antifungal ability of *Populus* transformant Pdpap-Hsp24 s to *Cytospora chrysosperma* and *Alternaria alternate* / S. D. Ji, Z. Y. Wang, H. J. Fan, R. S. Zhang, Z. Y. Yu, J. J. Wang, Z. H. Liu. – The Botanical Society of Japan and Springer Japan, 2016.
60. Kaczynski Kristen M., Susceptibility of *Salix monticola* to *Cytospora* canker under increased temperatures and decreased water levels / Kristen M. Kaczynski, David J. Cooper. – Forest Ecology and Management, 2013.
61. Karthikeyan S., Functional and structural responses of degradative microbial community to substrates with varying degrees of complexity in chemical structure / S. Karthikeyan, G. M. Wolfaardt, D. R. Korber, D. E. Caldwell. – Microb. Ecol, 1999, vol. 38, 215–224 pp.
62. Malayeri B. E., Using the pollen viability and morphology for fluoride pollution biomonitoring / B. E. Malayeri, M. Noori, M. Jafari. – Biol. Trace Elem. Res. –2012 – Vol. 147 (1–3). 315–319 pp.
63. Singlair W. A., Diseases of trees and shrubs. / W. A. Singlair, H. H. Lyon. – New York: Cornell university Press, Sage House, 2005. – 660 p.
64. Xin-Lei Fan, Morphological and phylogenetic studies of *Cytospora* (Valsaeeae, Diaporthales) isolates from Chinese scholar tree, with description of a new species / Fan Xin-Lei, Liang Ying-Mei, Ma Rong, Tian Cheng-Ming. – The Mycological Society of Japan, 2013.
65. Yang Qin, *Cytospora* from *Ulmus pumila* in Northern Chin. / Qin Yang, Xin-Lei Fan, Pedro W. Crous, Ying-Mei Liang, Cheng-Ming Tian. – Mycol Progress, 2015.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение 1 Значения степеней свободы для сравнения данных по обсемененности тополя бальзамического *Cytospora chrysosperma* Pers.

Административные районы г.Красноярска	Кировский	Железнодорожный	Центральный	Октябрьский	Свердловский	Ленинский	Советский
Кировский		57	52	52	55	53	51
Железнодорожный			57	57	60	58	56
Центральный				52	55	53	51
Октябрьский					55	53	51
Свердловский						56	54
Ленинский							52
Советский							

Приложение 2 Табличные значения критерия Стьюдента

Число степеней свободы, f	Значение критерия Стьюдента при p=0,05		
50	2,009	2,678	3,496
51	2,008	2,676	3,492
52	2,007	2,674	3,488
53	2,006	2,672	3,484
54	2,005	2,670	3,480
55	2,004	2,688	3,476
56	2,003	2,667	3,473
57	2,002	2,665	3,470
58	2,002	2,663	3,466
59	2,001	2,662	3,463
60	2,000	2,660	3,460

Приложение 3 Значения экспериментального критерия Стьюдента ($t_{экс}$) при сравнении данных по плотности всех пикнид на 1см² коры черенков тополя бальзамического

Административные районы г.Красноярска	Кировский	Железнодорожный	Центральный	Октябрьский	Свердловский	Ленинский	Советский
Кировский		3,30*	1,49	0,26	2,54	0,20	0,73
Железнодорожный			1,64	2,85	0,38	2,68	3,23
Центральный				1,16	1,11	1,11	0,20
Октябрьский					2,20	0,04	0,34
Свердловский						2,10	2,33
Ленинский							0,35
Советский							

*данные достоверны при уровне значимости $p = 0,05$

Приложение 4 Значения экспериментального критерия Стьюдента ($t_{\text{экс}}$) при сравнении данных по плотности жизнеспособных пикнид на 1см² коры черенков тополя бальзамического

Административные районы г.Красноярска		Кировский	Железнодорожный	Центральный	Октябрьский	Свердловский	Ленинский	Советский
Кировский		2,79	1,65	0,02	1,34	0,51	0,33	
Железнодорожный			1,24	2,88	1,27	3,23	3,80	
Центральный				1,72	0,14	2,13	2,48	
Октябрьский					1,39	0,50	0,32	
Свердловский						1,79	1,93	
Ленинский								0,34
Советский								

*данные достоверны при уровне значимости $p = 0,05$

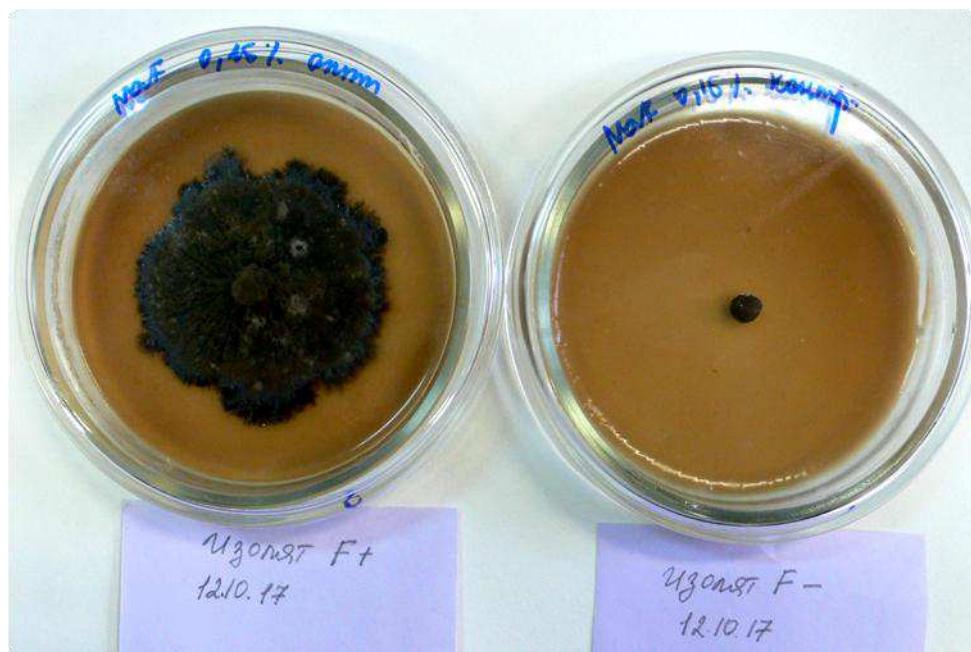
Приложение 5 Плотность пикнидообразования *Cytospora chrysosperma* Pers.
Fr. на коре тополя бальзамического (шт/1см²)*

	Административный район г. Красноярска						
	Кировский	Железнодорожный	Центральный	Октябрьский	Свердловский	Ленинский	Советский
Все пикниды	0,17 ± 0,03	0,31 ± 0,03	0,23 ± 0,03	0,18 ± 0,03	0,29 ± 0,04	0,18 ± 0,03	0,19 ± 0,02
Спороносящие пикниды	0,13 ± 0,02	0,23 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,18 ± 0,03	0,11 ± 0,02	0,12 ± 0,0095343

*данные достоверны при уровне значимости $p = 0,05$

Приложение 6 Внешний вид колонии *Cytospora chrysosperma* Pers. Fr. на фторсодержащей среде (NaF 0,15%) (посев агаровыми блоками, 60 сутки), (фото Сенашовой В. А.):

слева – изолят «F + » (опыт), справа – изолят «F – » (контроль)



Приложение 7 Результаты морфометрического анализа конидий *Cytospora chrysosperma* Pers. Fr. по районам г. Красноярска (мкм)

Параметры	Районы исследования													
	Железнодорожный		Кировский		Ленинский		Октябрьский		Свердловский		Центральный		Советский	
	Длина	Ширина	Длина	Ширина	Длина	Ширина	Длина	Ширина	Длина	Ширина	Длина	Ширина	Длина	Ширина
\bar{x}	10,60	3,30	10,60	3,43	10,97	3,88	11,19	3,55	10,54	2,91	10,96	3,16	8,87	2,60
m	0,09	0,06	0,10	0,07	0,11	0,08	0,12	0,08	0,08	0,05	0,09	0,06	0,09	0,05
x_{\min}	6,15	0,67	4,93	0,60	6,63	0,90	6,15	0,90	5,41	0,90	7,03	0,90	5,18	0,94
x_{\max}	17,17	6,60	16,71	7,29	16,50	13,35	19,69	12,26	14,83	9,65	17,10	7,32	14,89	6,25

\bar{x} – среднее значение по выборке

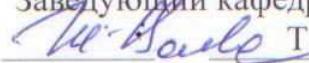
m – ошибка среднего

x_{\min} – минимальное значение по выборке

x_{\max} – максимальное значение по выборке

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
 Т. Г. Волова
подпись инициалы, фамилия

«18» июня 2018г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Изучение особенностей развития возбудителя бурого цитоспорозного некроза тополя микромицета *Cytospora chrysosperma* Pers. Fr. в урбанистической среде (на примере г. Красноярска).

Руководитель Л.Н. Афанасова доцент, к.б.н. Е.Н. Афанасова
подпись, дата

Консультант В.А. Сенашова с.н.с., к.б.н.
подпись, дата

Выпускник С.В. Беседина
подпись, дата

Красноярск 2018