

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК АЗЕРБАЙДЖАНА
ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ

На правах рукописи

ФАРИД АСКЕР ОГЛЫ МАСМАЛИЕВ
НЕМАТОФАГОВЫЕ ГРИБЫ ПОЧВЫ
ПИРГУЛИНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
ЗАПОВЕДНИКА

2414.01- микробиология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертация на соискание ученой
степени доктора философии
по биологии

БАКУ - 2014

Диссертационная работа выполнена на кафедре Микробиологии
Биологического факультета Бакинского Государственного
Университета

Научные руководители: **д.б.н., проф. Мехтиева Н.А.**
д.б.н., проф. Ибрагимов А.Ш.

Официальные оппоненты: **д.н.п. б., проф. Н.М.Исмаилов**
д.ф.п.б., доц. Т.Г.Абдуллаева

Ведущее учреждение: **Азербайджанский Медицинский**
Университет, кафедра микробиологии
и иммунологии

Защита состоится «28» ноября 2014 г. в _____ часов на
заседании Диссертационного Совета FD.01.222 при Институте
Микробиологии НАН Азербайджана

Адрес: AZ 1073, г. Баку, Патамдартское шоссе, 40

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института
Микробиологии НАН Азербайджана

Автореферат разослан: « » _____ 2014.г.

Ученый секретарь Диссертационного
совета FD.01.222., д.ф.п.б., доц.

Ф.Х.Гахраманова

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Почвенная экосистема заселена разнообразными микроорганизмами, которые находятся в сложных межорганизменных взаимоотношениях. В основе существующих межорганизменных взаимоотношений лежат трофические потребности, от которых зависят направление энергетического и конструктивного обмена организмов, участвующих во взаимоотношениях.

Трофические связи между микроорганизмами могут проявляться в виде сапротрофизма, биотрофизма и симбиотрофизма. В первом случае микроорганизм питается мертвым органическим субстратом, во втором он поселяется на живом организме и питается за счет живой клетки и в третьем случае симбионты питаются в результате их совместной деятельности.

Уникальной формой сапротрофной трофической связи, является хищничество микроскопических грибов в отношении свободно живущих нематод. При этом гриб поселяется на животное, улавливая последнего при помощи различных ловчих аппаратов, убивает его и в конечном итоге использует жертву в виде мертвого субстрата. В отличие от других сапротрофных грибов, легко выделяемых в чистую культуру обычными микробиологическими методами, выделение хищных и паразитных грибов-нематофагов требует специального подхода и поэтому несмотря на широкое распространение их в природе, изучением этой своеобразной экологической группы занимаются немногочисленные специалисты.

Со времен первой работы Zopf W., наблюдавший за улавливанием, умерщвлением, а затем питанием почвенными сапрозойными нематодами, гриба *Arthrobotrys oligospora* Fresen., на разных континентах мира обнаружил более сотни видов несовершенных грибов, способных питаться нематодами путем хищничества и паразитизма.

Новая эра в изучении хищных и паразитных нематофаговых грибов началась работами американского миколога Drechsler C., который описал более 100 видов нематофаговых грибов.

В настоящее время в некоторых странах (США, Англия, Бразилия, Канада, Китай и др.) проводятся работы по выявлению видового состава, изучению физиолого-биохимических и др.

особенностей, и, возможности использования хищных грибов в качестве биологического метода борьбы с нематодами растений, животных и человека, а также для получения биологически активных соединений-нематоцидов, противоопухолевых продуктов, ферментов и др. метаболитов.

Изучение этих грибов в Азербайджане начато Н.А.Мехтиева в середине прошлого века и показано наличие в почвах республики разнообразных видов хищных и паразитных нематофаговых грибов.

В отличие от хищных грибов паразитные гифомицеты поселяются на живые нематоды и питаются ими путем инфицирования животных конидиями постепенно заражая все тело. После заполнения тела нематод ассимилятивными гифами, последние выступают из различных участков наружу и образуют конидиеносцы и конидии. В отличие от хищных грибов паразитные гифомицеты трудно поддаются выделению в чистую культуру. Поэтому их массовое размножение для многосторонних исследований требует особого подхода.

В настоящее время уделяется большое внимание выявлению и сохранению биологического разнообразия во всех континентах мира и в связи с этим изучение нематофаговых грибов представляет интерес.

Цель и задачи исследования. Целью наших исследований является выявление видового разнообразия хищных и паразитных нематофаговых грибов в почвах бывшего Пиркулинского Государственного Природного Заповедника уже входящего в состав Шахдагского Национального Парка.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

- изучить распространение нематофаговых хищных грибов в почвах Пиргулинского Государственного Природного Заповедника;
- выделить чистые культуры, идентификация и создание коллекции хищных нематофаговых грибов;
- отбор наиболее активных хищных грибов в отношении различных нематод;
- выявить способы стимулирования образования ловчих аппаратов с целью использования их при изучении хищнической способности грибов в условиях аксенической культуры.

Научная новизна работы. Впервые изучен видовой состав хищных и паразитных нематофаговых гифомицетов почв

Пиркулинского Государственного Природного Заповедника. Обнаружено 42 вида, относящиеся к 11 родам. Из них 4 вида являются новыми для микобиоты Азербайджана, а 2 вида новые для науки.

Выявлен новый стимулятор образования ловчих аппаратов у хищных грибов.

Впервые выявлена способность хищного гриба паразитировать на представителе миксомицетного гриба *Stemonitis fusca* и рекомендована унифицированная среда для идентификации хищных грибов.

Предложены методы для выявления конкурентоспособности хищных грибов в почве и для получения тест культур сапрозойных нематод.

Практическая значимость работы. Отобраны 2 наиболее активных штамма по агрессивности в отношении почвенных нематод и личинок нематод овца грибов *Nematophagus azerbaijanicus* Mekht. и *Arthrobotrys chazarica* Mekht, которые могут быть использованы для приготовления биологического препарата против нематодозов.

Создана коллекция культур нематофаговых хищных грибов, состоящая из 27 видов.

Поддерживается культура почвенных сапрозойных нематод, которая может быть использована для дальнейших исследований по выявлению видового разнообразия нематофаговых грибов и межорганизменных взаимоотношений в почвенной экосистеме.

Результаты работ, могут быть использованы при планировании мероприятий по биологическому контролю нематодозов в искусственных и естественных агроэкосистемах Республики.

Апробация работы. Результаты работы были доложены на Республиканских научных конференциях "Экспериментальная биология и современность" (Баку, 2005) и "Актуальные проблемы биологии в XXI веке" (Баку, 2010), а также на XV международной конференции «Биологическое разнообразие Кавказа и юга России»(Махачкала, 2013).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 10 работ.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 140 страницах, состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, списка

цитируемой литературы и содержит 8 таблиц и 11 рисунков. Список литературы включает 192 источника.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводились на территории Пиргулинского Государственного Природного Заповедника, который с 2006 года входит в состав Шахдагского Национального Парка.

Пиргулинский Государственный Природный Заповедник созданный 25 декабря 1968 года расположен на южном склоне восточной оконечности Большого Кавказа на высоте 700-1980 метров над уровнем моря на территории Шемахинского административного района. Заповедник занимает 1521 га площади, из которой 1309 га покрыто лесом.

Распространенными почвообразующими породами являются глины, сланцы и известняки Юрского и Мелового периода.

В Пиргулинском Заповеднике представлена богатая растительность. Здесь насчитывается более 440 видов древесных, кустарников и травянистых растений (Мехтиева Н.А,1973).

Будучи представителями гифомицетов, хищные и паразитные грибы имеют развитый конидиальный аппарат, который способствует их широкому распространению в природе. Образцы почв и растительных остатков брались весной - май,июнь, лето – июль-август, осень-ноябрь и зимою - февраль 2004-2012 годы на территории Пиргулинского Государственного Природного Заповедника.

Учитывая возможность быстрого распространения одних и тех же видов грибов в пределах определенных очагов, при взятии почвенных и растительных образцов мы соблюдали следующие правила. На выбранном нами участке, на расстоянии не менее 100 метров друг от друга брали около 50 образцов. Всего было взято 318 образцов. Образцы брались с соблюдением стерильности и помещались в новые, полиэтиленовые пакетики. Почвенные образцы брались на глубине около 5-и см. Посев производился на следующий день после взятия образцов.

Хищные грибы выделялись на простой среде Ф.Ф.Сопрунова(1963). Испытуемый материал помещался на пластинку голодного агара, которая инокулировалась водной суспензией лабораторных культур нематод. Кроме этого метода Сопрунов

использовал часовые стекла со стерильной водой, куда помещались укусные угрицы и испытуемый материал.

Из всех перечисленных методов, выделения хищных и паразитных грибов более удобным является метод Н.А.Мехтиевой (1973). В своих исследованиях мы пользовались предложенным ею методом выделения хищных грибов с некоторыми изменениями, который заключается в следующем: в чашке Петри на пластинку 2% - ного голодного агара на определенном расстоянии помещаются 20-25 кусочек испытуемого материала (почва, разлагающиеся растительные остатки) в размере спичечной головки. Чашки помещаются во влажную камеру и поддерживаются при комнатной температуре. В зависимости от наличия в материале грибной диаспоры и личинок нематод приблизительно через 5-10 и более дней наблюдений под стереоскопическим или световым микроскопом (МБС, МБИ-3) непосредственно на материале обнаруживается спороношение гриба.

С помощью стерильной, сухой иглы изолируется головка конидий или одна спора, которая переносится в стерильную чашку Петри с пластинкой 2-3%-ного сусло-агара. Выросшая стерильная колония переносится в стерильный косяк с 4% -ным сусло-агаром для дальнейшего изучения гриба.

В наших исследованиях в качестве культуры нематод брали почвенные сапрозойные нематоды как более естественные для хищных грибов источника питания. Для получения сапрозойных нематод мы поступали следующим образом.

Чашки Петри, залитые средой Эшби инокулировались культурой азото- бактерии – *Azotobacter chroococcum*, выделенный из любой почвы. После прорастания газона азотобактера, в эту чашку переносились методом сухой иглы 10-20 почвенных сапрозойных нематод, развивающихся в чашках, инокулированных посевным материалом. В этих условиях нематоды быстро развивались и покрывали всю поверхность агаровой пластинки. Затем из этой пластинки вырезались кусочки в размере 0,5 см и помещались на пластинку стерильного голодного агара, которая затем инокулировалась чистой культурой гриба.

Инокулированные чашки поддерживались во влажных условиях, и буквально на 2-3-и сутки образовывалось множество нематод.

Паразитные нематофаговые грибы определялись непосредственно

на агаровой пластинке зараженной почвенными сапрозойными нематодами под микроскопом МБИ-3.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Выделение нематофаговых грибов

Проведенные нами исследования 318 образцов растительных остатков и почв, взятых в Пиркулинском Государственном Природном Заповеднике в 2004-2010 г.г. позволили обнаружить 117 случаев поражения почвенных нематод хищными и паразитными грибами, выделение в чистую культуру и идентификация которых показали, что из них 27 видов относятся к хищным, а 15 видов к паразитным нематофаговым (таб. 1 и 2). Отмеченные грибы отличаются между собой, а также распространению по субстратам. Например, 10 видов хищных нематофаговых грибов встречаются только на почвах, 8 видов только на растительных остатках, а 9 видов являются «универсальными».

Вообщем в результате проведенных исследований обнаружены 42 вида нематофаговых грибов относящихся к 11 родам. Из них 4 вида (*Arthrobotrys amerospora* Schenck, Kendrick et Pramer, *Golovinia cionopaga* (Drechsler) Mekht, *Golovinia gephyropaga* (Drechsler) Mekht., *Nematoctonus robustus* Jones) являются новыми для микобиоты Азербайджана, а 2 вида (*Arthrobotrys stemonitissima* sp.nov., *Arthrobotrys schamachiensis* sp.nov.) для науки. Виды, которые были новыми для науки, имели следующую характеристику:

1. *Arthrobotrys schamachiensis* sp.nov.

In aqua agarisato si nematode adsund: anuli mycelium hyalinum: hyphae septate: Conidiophora simplicia, raro ramosa, recta, geniculiformis capitula conidialia gerentia. Conidia elongato-obovata, elongato-piriformis uniseptata, septum infra medium 20.8-31.2 x 15.6-16.2 mkm. Adhaesivi orbiculares, composite perplexi. Nematoda multarum speciarum capiens consumensque.

Holotypus: fungus a terra, Azerbajdzhaniae, Schamachi, majo 2004, F.A.Masmaliev isolatus in Baku University publicum Azerbajdzhanic (Baku) conservatur.

В присутствии нематод: Ловчий аппарат в виде петель и их сложных соединений (рис 1).

Таблица 1.

Видовой состав хищных грибов Пиркулинского Государственного
Заповедника

Название родов	Название видов	П*	РО
Arthrobotrys Corda emend Mekht	A. aggregata (Drechsler) Mekht.	-	+
	A. arthrobotryoides	-	+
	A. amerospora Schenck, Kendrick et Pramer	-	+
	A. bakunika Mekht.	+	-
	A. chazarica Mekht.	+	-
	A. compacta Mekht.	+	+
	A. conoides Drechsler	+	+
	A. fruticulosa Mekht.	-	+
	A. irregularis (Matr.) Mekht.	+	-
	A. kirghizica Sopr.	+	+
	A. longa Mekht.	+	-
	A. macroides (Drechsler) Mekht.	+	-
	A. oligospora Fresen.	-	+
	Arthrobotrys schamachiensis sp. nov.	+	+
	Arthrobotrys stemonitissima sp. nov.	+	-
Duddingtonia	D. flagrans (Dudd.) Mekht.	+	-
Dactylariopsis Mekht	D. brochopaga (Drechsler) Mekht	-	+
	D. dactyloides (Drechsler) Mekht	+	+
Golovinina Mekht	G. cionopaga (Drechsler) Mekht	-	+
	G. eudermata (Drechsler) Mekht.	+	+
	G. gephuropaga (Drechsler) Mekht.	-	+
	G. thaumasia (Drechsler) Mekht	+	+
Nematophagus Mekht	N. azerbaijanicus Mekht	+	+
Nematoctonus Drechsler	N. campyloporus Drechsler	+	-
	N. concurrens Drechsler	+	-
	N. haptocladus Drechsler	+	+
	N. robustus Drechsler	+	-

Примечание: П – почва и РО – растительные остатки

Таблица 2

Видовой состав паразитных нематофаговых грибов, обнаруженных
в Пиркулинском Заповеднике по распространению на субстрату

Название родов	Название видов	почва	Растительные остатки
Harposporium Lohde	Harposporium anguillulae Lohde	+	+
	Harposporium arcuatum Bar.	+	-
	Harposporium crassum Shepherd	+	-
	Harposporium helicoides Drechs	+	+
	Harposporium lilliputanum Dixon	+	+
	Harposporium oxycoracum Drechs	+	+
Meria Vuillemin	Meria coniospora Drechs	+	+
Nematoctonus Drechs	Nematoctonus leiosporus Drechs	+	+
	Nematoctonus leptosporus Drechs	-	+
	Nematoctonus tylosporus Drechs	+	+
Spicaria Harz	Spicaria coccospora Drechs	+	+
Verticillium Nees ex Wallroth	Verticillium balanoides Drechs	+	+
	Verticillium obovatus Drechs	-	+
	Verticillium sphaerosporum Goodey	+	+
	Verticillium zeosporus Drechs	-	+

Конидиеносцы прямые, простые, иногда с одной ветвью, отходящей от дистальной части или на заметном расстоянии, с одной, очень редко с двумя последовательными головками, состоящими из



Рисунок 1. *A. schamachiensis* (ловчие кольца)

4-10 и более рыхло расположенных конидий; дистальная часть не расширена, снабжена хорошо выраженными, длинными стеригмами, которые иногда после опадения конидий остаются на них в виде ножки.

Конидии удлинено-обратногрушевидные, удлинено-обратнойцевидные с выраженным сосочком на проксимальном конце; перегородка расположена несколько ниже середины с более или менее выраженной перетяжкой, 20,8-31,2, чаще 28,6 мкм дл. и 15,6-16,2, чаще 15,6 мкм шир. Нередко, будучи на конидиеносце, конидии или стеригмы соединяются анастомозом, создавая компактную метельку (рис.2).

В чистой культуре: колония нежно пушистая, по краям зональная и мучнистая, в начале серовато-белая, позднее слабо бежеватая; спороношение обильное.

Конидиеносцы гифоподобно многократно разветвленные, трудно различимые от вегетативных гиф. На различных участках мицелия и на вершине конидиогенных гиф возникают более или менее выраженные



Рисунок 2. *A. schamachiensis* (конидиеносцы и конидии).

расширения, где развиваются до 5-10 конидий, расположенных на заметных, подобно ростковым трубкам, стеригмах или отдельные конидии рыхло расположенные и соединенные друг с другом с ясно выраженными анастомозами.

Конидии будучи на конидиогенных гифах прорастают от дистальной и проксимальной клетки; проросшие конидии своими ростковыми трубками соединяются с рядом лежащими конидиями или гифами, а сами ростковые трубки, отходящие от обеих клеток, удлиняются и могут превратиться в новую конидиогенную гифу.

Конидии обратнойцевидные, удлинено обратнойцевидные, с перегородкой, расположенной ниже середины, при выпадении проксимальная часть часто снабжена толстой ножкой-остатком стеригмы конидиеносца. В препарате после вдавливания конидии остаются вместе в виде розетки, 26-33x13-18,2 мкм.

Гриб впервые выделен нами из лесной почвы вблизи территории Шамахинской астрофизической обсерватории (май, 2006 г) и описан как новый вид.

Примечание: Описанный нами гриб по размерам конидий близок с *A. perpasta* Yarrow., но отличается от последнего строением конидиеносцев, формой конидий, расположением перегородки и

строением ловчего аппарата.

2. *Arthrobotrys stemonitissima* sp. nov.

In sporangium *Stemonitis fusca* Roth.: Conidiophora simplicia, recta, capitula conidialia gerentia. Conidia late-cylindrical vel late-obovata, uniseptata, 18.2-23.4 x 10.4-13 μ m. In aqua agarisata si *Azotobacter chroococcum* et nematoda absunt: annuli adhaesivi orbiculares, composite perplexi.

Holotypus: fungus in sporangium *stemonitis fusca* Roth., Azerbajdzhanica, Schamakhi, Oct. 2004, F. Masmalijev isolatus. In Baku University publicum Azerbajdzhanica (Baku) conservatur.

Гриб выделен на спорангиях миксомицетного гриба *Stemonitis fusca* Roth. Конидиеносцы отходят от разного участка, включая ножки спорангия в виде отдельных боковых ветвей, с единственной конидиогенной головкой, содержащей до 7-8 конидий. Вершина конидиеносца слегка расширена и усеяна бородавками-стеригмами, к которым крепко прикреплены одиночные конидии.

Конидии широкоцилиндрические с округленной дистальной и слегка суживающейся проксимальной клеткой, с перегородкой, расположенной в середине, чуть ниже середины, иногда выше середины, без перетяжки, проксимальные клетки часто соединяются анастомозами будучи на конидиеносце, 18,2-23,4 x 10,4-13 мкм (рис. 3).



Рисунок 3. *Arthrobotrys stemonitissima* (конидии)

На голодном агаре в присутствии нематод: ловчие приспособления в виде многочисленных липких колец. Размеры конидий при росте на спорангиях и нематодах почти равные (рис. 4).



Рисунок 4. *Arthrobotrys stemonitissima* (конидиеносец)

Гриб впервые выделен нами из почвы Нагараханы (2008 г) и описан как новый вид.

Примечание: Изолированный нами гриб по форме конидий и строению конидиогенной части конидиеносца несколько близок к *Arthrobotrys aggregata* (Drechsler) Mekht, но отличается многократным ветвлением конидиеносца и большими размерами конидий.

2. Отбор активных штаммов хищных грибов в отношении нематодозов овца и образование ловчих аппаратов в стерильных условиях

Приготовление биопрепаратов хищных грибов и успешное его применение в практике в борьбе с нематодозами требует наличия

наиболее агрессивного штамма в отношении болезнетворных нематодов.

Первым этапом отбора агрессивных грибов является отбор штаммов в стерильных условиях.

Известно, что в пределах одного и того же вида разные штаммы проявляют разной степени способности синтезировать то или иное биологически активное соединение. То же самое положение можно было ожидать у хищных грибов, которые по исследованиям многих авторов проявляли разные степени образования ловчих приспособлений. Однако не всегда количество ловчих приспособлений говорило об их агрессивности в отношении разных по систематическому положению нематод. Это зависит от размеров и степени подвижности личинок свободноживущих нематод. Поэтому при отборе наиболее активных штаммов необходимым тест объектом должны быть нематоды, против которых планируются мероприятия.

Для отбора активных штаммов нами были использованы висячие капли на предметном стекле с лункой. Для этого на покровное стекло помещалась капля стерильной водопроводной воды, куда вносилось 10-15 личинок почвенных сапрозойных нематод и маленький кусочек 7 дневной чистой культуры испытуемого штамма.

Предметное стекло с висячей каплей выдерживалось во влажных условиях при комнатной температуре. Просмотр материала проводился со следующей сутки в течении 5 суток под микроскопом МБИ-3 при малом увеличении (150*). При подсчете ловчих приспособлений была принята 3 балльная система: если в капле обнаруживалось до 5-ти ловчих колец, обозначалось = 1 (активность слабая); 5-15 = 2 (активность средняя); больше 15 = 3 (активность высокая). Следовательно, отбор активных штаммов хищных грибов проводился по активности образования ловчих аппаратов.

Учитывая, что грибы родов *Arthrobotrys* и *Nematophagus* имеют обильное спороношение, которое является одним их важных факторов приготовления биопрепарата, нами были проверены на агрессивность в отношении почвенных нематод 7 видов рода *Arthrobotrys* и *N. azerbaijani*. Средние результаты испытаний в 3-х повторностях приведены в таблице 3.

В результате исследований было установлено, что из 6-и видов рода *Arthrobotrys* наиболее активными оказались *A. chazarica* штамм 2 и

N.azerbaidzhanicus штамм 7.

Как видно из табл.3 наибольшая активность образования кольца наблюдалась у штаммов грибов *Arthrobotrys chazarica* штамм 2 и *Nematophagus azerbaijanicus* штамм 7, а наименьшая у *Arthrobotrys*

Таблица 3.

Активность образования ловчих аппаратов у разных видов нематофаговых хищных грибов

Виды	Кол-во колец за 5-дней	Степень активности
<i>Arthrobotrys oligospora</i> штамм 6	10	2
<i>Arthrobotrys compacta</i> штамм 3	12	2
<i>Arthrobotrys conoides</i> штамм 4	12	2
<i>Arthrobotrys aggregata</i> штамм 1	4	2
<i>Arthrobotrys macroides</i> штамм 5	14	2
<i>Arthrobotrys chazarica</i> штамм 2	<15	3
<i>Nematophagus azerbaijanicus</i> штамм 7	<15	3

aggregata штамм 1. Активность кольцообразования (по количеству кольца) у *Arthrobotrys chazarica* штамм 2 и *Nematophagus azerbaijanicus* штамм 7 была в 4 раза больше, чем у *Arthrobotrys aggregata* штамм 1. У других штаммов – *Arthrobotrys oligospora* штамм 6, *Arthrobotrys compacta* штамм 3, *Arthrobotrys conoides* штамм 4 и *Arthrobotrys macroides* штамм 5 активность кольцообразования была 2,5-3,5 раза больше, чем у *Arthrobotrys aggregata* штамм .

Учитывая хороший рост культур и обильное спороношение, виды грибов *Arthrobotrys chazarica* штамм 2 и *Nematophagus azerbaijanicus* штамм 7 были отобраны в качестве активных хищных грибов, которые могут быть рекомендованы для приготовления биопрепаратов против почвенных нематод.

3.Активность образования ловчих аппаратов *Arthrobotrys chazarica* штамм 2 и *Nematophagus azerbaijanicus* штамм 7 по отношению к нематодам овца, их развитие и активность в почве

Грибы *Arthrobotrys chazarica* штамм 2 и *Nematophagus azerbaijanicus* штамм 7, проявляющие высокую активность против почвенных нематод, были испытаны в отношении нематодов овца. Для этого брались свежие экскременты (шарики) овца которые помещались в часовые стекла с теплой стерильной водой и просматривались под микроскопом МБС. Если из экскрементов выползали нематоды последние в количестве 15 особей помещались в висячую каплю, в которой наблюдали за развитием ловчих аппаратов, как в случае с сапрозойными нематодами. В результате было установлено, что активные штаммы, отобранные по отношению к почвенным сапрозойным нематодам, оказались активными и по отношению нематодозов овца (табл.4).

Таблица 4

Активность образования ловчих аппаратов у хищных грибов по отношению нематодов овца

Виды	Кол-во колец за 5-дней	Степень активности
<i>Arthrobotrys chazarica</i> штамм 2	< 15	3
<i>Nematophagus azerbaijanicus</i> штамм 7	< 15	3

Хищные грибы *Arthrobotrys chazarica* штамм 2 и *Nematophagus azerbaijanicus* штамм 7 интенсивно развиваются и обильно спороносят в условиях чистой культуры на сусло агаре. Они также образуют многочисленные ловчие приспособления на голодном агаре и в стерильной воде в присутствии нематод. Однако условия чистой культуры и нестерильной почвы резко отличаются. Поэтому при отборе агрессивного штамма с целью приготовления препарата необходимо знать его конкурентоспособность в естественных условиях

(в почве).

С целью выяснения конкурентоспособности отобранных активных штаммов *Arthrobotrys chazarica* штамм 2 и *Nematophagus azerbaijanicus* штамм 7 была проведена работа по выяснению проявления степени активности спороношения и образования ловчих аппаратов в условиях нестерильной почвы. Почва была взята на территории Шемахинской обсерватории. Данная процедура проводилась в следующих двух этапах:

Стерильная фильтровальная бумага помещалась на дно стерильной чашки и инокулировалась почвенной суспензией. Чашка поддерживалась во влажных условиях в течении 1-2 месяцев. В течении этого времени на фильтровальной бумаге развивались целлюлозоразлагающие микроорганизмы, которые служили пищей для почвенных сапрозойных нематод. Если в почвенной суспензии имелись диаспоры хищных грибов, то они бурно развивались и покрывали всю поверхность бумаги. Таким образом, проверялось отсутствие или присутствие в этих почвенных образцах хищных грибов.

Для выяснения конкурентоспособности отобранных нами штаммов была использована почва, где отсутствовали хищные грибы. Для постановки опыта с отобранными штаммами брались по 2 чашки Петри, которые заполнялись просеянной почвой и увлажнялись стерильной водопроводной водой. Почва инокулировалась водной суспензией конидий, полученной путем соскабливания всей колонии, выращенной в одной чашке Петри на 5° Б сусло-агаре. Наблюдение за развитием гриба начиналось через 1 неделю после инокуляции, и продолжалось до 2-х месяцев. Для этого с помощью пастеровской микропипетки, брались крупинки почвы, из разных участков чашки, помещались в каплю воды и просматривались под микроскопом МБС.

При этом если в почве гриб развивался, то в капле обнаруживались гифы гриба, на которых развивались или отсутствовали ловчие приспособления. Одновременно проводилось наблюдение за наличием конидий. Если почва была обильно населена нематодами, то внесенный гриб хорошо развивался в нестерильной почве, улавливал нематод и спороносил, что было замечено при просмотре поверхности почвы под стереоскопическим микроскопом.

Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что при соблюдении необходимых благоприятных

условий *Arthrobotrys chazarica* штамм 2 и *Nematophagus azerbaijanicus* штамм 7 в нестерильной почве могут выдерживать конкуренцию с другими почвенными микроорганизмами, и, могут быть рекомендованы для приготовления биопрепаратов, как против почвенных нематод, так и нематодозов овец.

ВЫВОДЫ

1. Впервые изучены нематофаговые грибы Пиркулинского Государственного Природного Заповедника и обнаружены 42 вида, относящиеся к 11 родам. Установлено, что 27 видов являются хищными, а 15 видов паразитными нематофаговыми грибами.
2. Выявленные грибы *Arthrobotrys stemonitissima* sp.nov., и *Arthrobotrys schamachiensis* sp.nov впервые описаны как новые для науки виды, а виды *Arthrobotrys amerospora* Schenck, Kendrick et Pramer, *Arthrobotrys stemonitissima* sp.nov., *Arthrobotrys schamachiensis* sp.nov., *Golovinina cionopaga* (Drechsler) Mekht, *Golovinina gephyropaga* (Drechsler) Mekht., *Nematoctonus robustus* Jones впервые обнаружены в природе Азербайджане.
3. Установлено, что в Пиркулинском Государственном Природном Заповеднике, из 42 видов отмеченных нематофаговых грибов, 12 распространяется только в почве, 11 в растительных остатках, а остальные 19 видов способны обитать на обеих субстратах.
4. Изучена агрессивность штаммов хищных грибов и отобраны 2 активных штамма для использования против нематодозов - *Arthrobotrys chazarica* штамм 2 и *Nematophagus azerbaijanicus* штамм 7.
5. Подготовлены унифицированные методы для идентификации нематофаговых грибов и для получения культур сапрозойных нематод.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Масмалиев Ф.А., Мехтиева Н.А. Хищные грибы впервые обнаруженные в Азербайджане. / "Eksperimental Biologiya və müasirlik Respub.elmi.konf.material. Bakı, BDU nəşr., 2005, стр.88-89.

2. Масмалиев Ф.А. Нематофаговые грибы почвы Шемахинской Астрофизической Обсерватории. / “Eksperimental Biologiya və müasirlik”. Respub.elmi.konf. material. Bakı, BDU nəşr., 2005, стр.90-91.
3. Масмалиев Ф.А. Хищные виды рода *Arthrobotrys* в почвах Пиркулинского Заповедника. // Труды Института Ботаники Национальной Академии Наук Азербайджана, 2006. Том 26 стр.87-91.
4. Масмалиев Ф.А. Новый стимулятор образования ловчих аппаратов у хищных грибов. // Труды Института Микробиологии Национальной Академии Наук Азербайджана, 2006, т.3, с.204-207.
5. Масмалиев Ф.А., Шахмурова А.М. Нематофаговые и амёбофаговые грибы, обнаруженные в малой Азии. // Труды Института Микробиологии Национальной Академии Наук Азербайджана, 2007. т.5, с.60-62.
6. Масмалиев Ф.А. Нематофаговые хищные грибы с многоклетными конидиями из почвы Пиркулинского Заповедника. // Доклады Национальной Академии Наук Азербайджана, 2007, т. LXIII, №3, с.70-75.
7. Масмалиев Ф.А. Новый нематофаговый и микофильный гриб. // Доклады Национальной Академии Наук Азербайджана, 2008, т.LXIV, №3, с.73-75.
8. Масмалиев Ф.А. Новый вид хищного гриба гифомицета. // Микробиология и Биотехнология, Тбилиси 2009, Том 1, №1 стр.81-83.
9. Масмалиев Ф.А. Нематофагия актиномицетов, обнаруженных в почве Пиркулинского Заповедника. / “XXI əsrdə Biologiyanın aktual problemləri” Respub.elmi.konf.material. Bakı, BDU-2010 стр.271-272.
10. Масмалиев Ф.А. Нематофаговые хищные грибы Пиркулинского Государственного Заповедника./Материалы Международной конференции «Биологическое разнообразие Кавказа и Юга России. Махачкала, 2013, с.409-410

MƏSMƏLİYEV FƏRİD ƏSGƏR OĞLU

PIRQULU DÖVLƏT QORUĞU TORPAQLARININ NEMATOFaq GÖBƏLƏKLƏRİ

Təqdim olunan işin məqsədi artıq Şahdağ Milli Parkının tərkibinə daxil edilmiş keçmiş Pirqulu Dövlət Təbiət Qoruğunun torpaqlarında yayılan yırtıcı və parazit nematofaq göbələklərin növ müxtəlifliyinin tədqiq edilməsidir.

Aparılan tədqiqatlarda Pirqulu Dövlət Təbiət Qoruğunun yırtıcı və parazit nematofaq hifomisetlərin növ tərkibi ilk dəfə öyrənilib, 11 cinsə aid olan 42 növ aşkar olunub. Onlardan 4 *Arthrobotrys amerospora* Schenk, *Kendrick et Pramer*, *Arthrobotrys stemonitissima* sp.nov., *Arthrobotrys schamachiensis* sp.nov., *Golovinia cionopaga* (Drechsler) Mekht, *Golovinia gephyropaga* (Drechsler) Mekht., *Nematoctonus robustus* Jones) növünün Azərbaycan mikobiotası, 2 (*Arthrobotrys stemonitissima* sp.nov., и *Arthrobotrys schamachiensis* sp.nov) növünün isə elm üçün yeni olduğu aşkar olunubdur

Müəyyən olunmuşdur ki, Pirqulu Dövlət Təbiət Qoruğunda qeydə alınan 42 nematofaq göbələk növündən 12-nə yalnız torpaqlarda, 11-nə isə yalnız bitki qalıqlarında rast gəlinir, qalan 19 növ isə hər iki substratda məskunlaşma qabiliyyətinə malikdir.

Yırtıcı göbələklərin miksomisetlərə aid *Stemonitis fusca* üzərində parazitlik etməsi ilk dəfə aşkar olunmuş və yırtıcı göbələklərin idensifikasiyası üçün unifikasiya edilmiş mühit tövsiyə edilmişdir

Müxtəlif nematodozlara qarşı *Nematophagus Azerbaidzhanicus* Mekht və *Artrbortys chazarica* Mekht kimi iki ən aktiv növ seçilmiş və onların nematodlara qarşı hazırlanan preparatlarda istifadə olunması təklif olunmuşdur.

Yırtıcı nematofaq göbələklərin torpaqda rəqabətədavamlılığının müəyyən edilməsi və saprozoy nematofaqların test kulturalarının alınması üçün metod təklif edilmişdir.

FARID ASKER MASMALIYEV

NEMATOPHAGOUS FUNGI OF SOIL OF STATE PIRGULI RESERVE

The aim of the present work is to identify the species diversity of predatory and parasitic fungi in soils nematofagovyh former Pirguli State Nature Reserve is already a member of the Shakhdag National Park.

In the studies the species composition of predatory and parasitic nematofagovyh filamentous soil Pirguli State Nature Reserve. Found 42 species belonging to 11 genera. Of these, 4 (*Arthrobotrys amerospora* Schenck, Kendrick et Pramer, *Arthrobotrys stemonitissima* sp.nov., *Arthrobotrys schamachiensis* sp.nov., *Golovinia cionopaga* (Drechsler) Mekht, *Golovinia gephyropaga* (Drechsler) Mekht., *Nematoctonus robustus* Jones) species are new to mycobiota Azerbaijan, and 2 (*Arthrobotrys stemonitissima* sp.nov., and *Arthrobotrys schamachiensis* sp.nov) species new to science.

It is established that in Pirguli State Nature Reserve, 42 species of fungi selected nematofagovyh 12 applies only in the soil, 11 in crop residues, and the remaining 19 species are able to dwell on both substrates

For the first time revealed the ability of predatory fungus parasite on representative miksomitsetnogo fungus *Stemonitis fusca* and recommended a unified framework for the identification of prey gribov.

Selected two of the most active strain for aggression against soil nematodes and nematode larvae sheep fungi *Nematophagus azerbaijanicus* Mekht. and *Arthrobotrys chazarica* Mekht, which can be used for the preparation of a biological preparation against nematodosiss

The methods for identifying competitive predatory fungi in the soil and to obtain test cultures saprozoynyh nematodes.

AZƏRBAYCAN MİLLİ ELMLƏR AKADEMİYASI

MİKROBİOLOGİYA İNSTİTUTU

Əlyazması hüququnda

FƏRİD ƏSGƏR OĞLU MƏSMƏLİYEV

**PİRQULU DÖVLƏT QORUĞU TORPAQLARININ
NEMATOFAQ GÖBƏLƏKLƏRİ**

2414.01 – Mikrobiologiya

**Biologiya üzrə fəlsəfə doktoru elmi
dərəcəsi almaq üçün təqdim olunan dissertasiyanın**

A V T O R E F E R A T I

BAKİ -2014

