

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

Кафедра микробиологии и физиологии растений

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В  
СИСТЕМЕ КАШТАНОВАЯ МИНИРУЮЩАЯ МОЛЬ – КОНСКИЙ  
КАШТАН ОБЫКНОВЕННЫЙ**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 3 курса 331 группы

Направления подготовки магистратуры 06.04.01 Биология

Биологического факультета

Тарасовой Анастасии Викторовны

Научный руководитель:

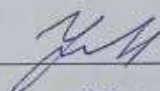
к. б. н., доцент

  
28.11.25

Е.В. Глинская

Зав. кафедрой:

д. б. н., доцент

  
28.11.25

Д.В. Уткин

Саратов 2025

## Введение

**Актуальность темы.** Огромное влияние на экологическое состояние окружающей среды в наше время оказывает негативная антропогенная деятельность: происходит изменение климата и увеличение выбросов автотранспорта, техногенное загрязнение воздуха, почвы и воды. Все это, в свою очередь, создает благоприятные условия для адаптации и быстрого размножения вновь интродуцированных вредителей растений [1].

Каштан конский обыкновенный (*Aesculus hippocastanum* L., 1753) – высокодекоративное древесное растение. До середины 80-х гг. XX в. каштан считался высокоустойчивым к повреждению энто - и фитовредителями видом, входил в состав основного ассортимента пород для озеленения большинства городов Центральной и Восточной Европы.

Инвазивные виды насекомых и грибов представляют серьезную проблему для существования древесных растений северо - западной европейской части России. В настоящее время происходит интенсивная экспансия различных видов моли-пестрянки (Lepidoptera: Gracillariidae), минирующих листовые пластинки [2, 3].

Каштановая минирующая моль (охридский минер) *Cameraria ohridella* Deschka et Dimic, 1986 (Lepidoptera: Gracillariidae) – вид, который затрудняет декоративную функцию тысячи конских каштанов в Европе. Вред, причиняемый гусеницами моли, заключается в том, что кроны каштанов не обеспечивают деревьям достаточным накоплением питательных веществ, что приводит к обморожению зимой, а сами деревья ослабевают и становятся мишенью развития грибковых инфекций [4,5].

Охридский минер был описан как новый вид для науки югославскими энтомологами Deschka и Dimic из коллекций 1984 г. в районе Охридского озера в Македонии. С тех пор минер получил широкое распространение в тех местах, где произрастает конский каштан, освоив территорию всей Европы и европейской части России [6].

Из-за разрушений, вызванных каштановыми минерами, каштаны в начале XXI века утратили свой естественный декоративный вид, что представляет серьезную проблему для парковых дизайнерских служб.

Можно предположить, что в ближайшие 3 - 5 лет количество «новых» поселений в Поволжье, где имеются каштановые насаждения, будет полностью заселено инвазивным вредителем-дендрофагом, что подтверждается полной колонизацией каштановых насаждений г. Саратова за период с 2018 по 2021 гг.

Несмотря на ряд исследований, указывающих на адаптацию местных паразитоидов к новому хозяину с течением времени борьба с этим инвазивным вредителем со стороны естественных врагов все еще недостаточна, а применение средств химической защиты в виде опрыскивания в городах ограничено. Использование инъекции стволов также не приводит к значительным устойчивым результатам и травмируют стволы, вызывая вероятность заражения стеблевыми гнилями при регулярном применении [7]. Таким образом, на сегодняшний день экономически и экологически приемлемые способы контроля популяций *C. ohridella* отсутствуют и проблема защиты каштана конского от повреждения, вызванного каштановой минирующей молью, все еще остается открытой [4, 8].

#### **Цель и задачи исследования.**

Целью исследования являлось определение биологических свойств бактерий, циркулирующих в системе каштановая минирующая моль – конский каштан обыкновенный.

Для реализации указанной цели были поставлены и решены следующие задачи:

1. Установить видовой состав и количественные показатели ассоциативных микроорганизмов.
2. Изучить субстратный спектр выделенных культур микроорганизмов.

3. Определить антагонистическую активность бактерий, циркулирующих в системе каштановая минирующая моль – конский каштан обыкновенный.

4. Выявить факторы фитопатогенности ассоциативных микроорганизмов.

### **Материал и методы исследования**

Объектом исследования послужили здоровые листья конского каштана, листья с пустыми минами и гусеницы охридского минера

При изучении пищевых потребностей бактерий-ассоциантов каштановой моли были использованы различные органические и неорганические источники углерода и азота. При рассмотрении факторов фитопатогенности мы проанализировали способность микроорганизмов к гидролизу пектина и целлюлозы.

В качестве тест-культур для определения антагонистической активности были использованы культуры бактерий: *Bacillus cereus* 8038, *B. subtilis* 26Д, *Escherichia coli* 113-13 и *Staphylococcus aureus* 209-Р, а также культуры следующих грибов: *Aspergillus terreus*, *Curvularia lunata*, *Fusarium dimerium*, *F. oxysporum*, *Penicillium meleogrimum*, *P. varottii*, *Rhizopus* sp., *Sporodibolus salmonicolor*, *Verticillium* sp.

Определение антагонистической активности с использованием тест-культур бактерий проводили методом агаровых блоков. Исследуемые культуры и тест-культуры бактерий выращивали на плотной среде ГРМ-агар (Россия, Оболенск) при температуре 37 °С в течение 24 – 72 ч. Бактериальные тест-культуры суспендировали в стерильной дистиллированной воде по стандарту мутности 10 ЕД, наносили по 100 мкл каждой культуры и шпателем равномерно распределяли их по поверхности плотной среды для образования газона. Из чашки Петри с исследуемыми бактериями стерильным сверлом вырезали блоки, которые затем скальпелем помещали на чашки с газонами бактерий. Блоки располагали по 6 штук на каждой чашке на одинаковом

расстоянии друг от друга, плотно прижимая к поверхности среды. Посевы тест-культур бактерий инкубировали при 37 °С 24 – 48 часов. По окончании времени инкубации, измеряли диаметры зон ингибирования роста тест-культур в миллиметрах.

Антагонистическую активность по отношению к грибам определяли на питательной среде PDA (200 г картофеля на 1 литр среды + 2 % голодного агара) с помощью модифицированного метода перпендикулярных штрихов А. М. Петерсон. Касанием петли плесневый гриб был посеян на питательную среду в центре чашки Петри. Посевы инкубировали 2 дня при 28 °С. Бактерии были нанесены петлей от края чашки до колонии плесневого гриба с отступом 0,5 см. Культивировали 5 дней при 28 °С. Антагонистическую активность оценивали по разнице между длинами частей вегетативного мицелия, на которую не оказывал воздействие антагонист и частью, которая была подавлена бактерией.

Для количественной оценки антагонистической активности бактерий рассчитывали среднее арифметическое значение показателей ингибирования роста фитопатогенов и стандартную ошибку среднего.

Изучение мацерированной активности проводили путем заражения стерильных ломтиков картофеля и моркови 18-часовой культурой бактерий. На срезы толщиной 1 см и площадью 2–3 см<sup>2</sup> наносили 5 мкл культуры, ломтики инкубировали в чашках Петри при 28 °С в течение суток, после чего взвешивали массу мацерированной ткани. Каждый эксперимент ставили в трехкратной повторности и данные обрабатывали статистически

**Структура и объем работы.** Работа, изложенная на 72 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников. Исследование проиллюстрировано 12 рисунками и содержит 20 таблиц. Список использованных источников включает 60 наименований.

**Научная новизна.** Впервые для системы «*Cameraria ohridella* – *Aesculus hippocastanum*» на территории Нижнего Поволжья проведено комплексное исследование ассоциативных микроорганизмов с выделением 70 штаммов, относящихся к 47 видам.

Установлена динамика изменения видового состава и численности микробных ассоциантов в течение вегетационного сезона и между поколениями вредителя.

Дана комплексная характеристика биологических свойств доминантных штаммов (*B. acidiceler*, *B. decolorationis*, *B. psychrosaccharolyticus*, *B. simplex*, *Brevibacillus brevis*, *Microbacterium imperial*), включая их ферментативный потенциал и антагонистическую активность.

**Научная значимость.** Комплексное изучение микробиоты ассоциированное с каштановой молью показало, что выделенные штаммы бактерий обладают потенциалом для биологической защиты растений. Широкий спектр ферментов позволяет рассматривать эти штаммы как перспективные для биотехнологического применения.

#### **Положения, выносимые на защиту.**

1. Микробное сообщество в системе «каштан конский обыкновенный – каштановая минирующая моль» характеризуется специфическим составом с доминированием бактерий родов *Bacillus*, *Kurthia*, *Xenorhabdus* и грибов родов *Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Rhizopus* и *Penicillium*, что отражает его уникальную экологическую структуру.

2. Выделенные штаммы микроорганизмов демонстрируют высокую экологическую пластичность и выраженный биотехнологический потенциал, что подтверждается их способностью утилизировать широкий спектр субстратов (крахмал, дисахариды, липиды) и адаптироваться к различным нишам в пределах фитобиома.

3. Комплекс биологических свойств ассоциативных микроорганизмов, включающий высокую мацерирующую и антагонистическую активность,

определяет их ключевую роль в экологических процессах системы, выступая фактором как патогенеза и деструкции, так и биоконтроля.

### **Основное содержание работы**

В главе «Основная часть» представлен анализ литературных данных о каштановой минирующей моли (*C. ohridella*), ее систематике, биологии, экологии и стремительном распространении в качестве инвазивного вида в Европе и России. Подробно рассмотрены вредоносность фитофага, заключающаяся в минировании листовых пластинок конского каштана, что приводит к потере декоративности, ослаблению и гибели деревьев, а также его ассоциативные микроорганизмы, включая бактерии и энтомопатогенные грибы. В разделе также приведен обзор существующих методов борьбы с вредителем: химических (инсектициды, инъекции), биологических (энтомофаги, энтомопатогены, феромоны) и агротехнических, и обоснована необходимость комплексного подхода к защите насаждений.

В главе «Результаты исследования» представлены результаты работы, в ходе которой из объектов трофической цепи «конский каштан – каштановая минирующая моль» за три поколения вредителя было выделено 70 штаммов микроорганизмов, отнесенных к 7 родам бактерий (*Bacillus*, *Brevibacillus*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Staphylococcus*) и 6 родам грибов (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus*). Рассчитаны индексы встречаемости и количественные показатели (от  $10^2$  до  $10^5$  КОЕ) выделенных культур, показана динамика изменения микробного сообщества в течение сезона.

Представлены данные о ферментативной активности выделенных бактерий: 100 % штаммов способны использовать глюкозу, 80 % – гидролизовать крахмал, 69 % – утилизировать желатин. Все изучаемые доминантные микроорганизмы активно использовали нитраты и соли аммония, а 50 % обладали способностью к азотфиксации. Все штаммы проявляли

липолитическую активность, наиболее активно используя оливковое (50 %) и рыжиковое (33,3 %) масла.

Изложена информация об устойчивости бактерий к физико-химическим факторам. Оптимальный рост отмечался при температуре 10 °С (52 % штаммов), pH 9 (79 %) и содержании NaCl 2 % (100 %). При температуре 43 °С способны были расти только 14 % культур.

Для проникновения в растительный организм бактерии должны иметь комплекс ферментов, которые разрушают растительные ткани: целлюлазы, пектиназы, глюканазы, ксилозидазы [9].

При изучении факторов патогенности установлено, что 50 % исследуемых доминантных штаммов обладали мацерирующей активностью в отношении картофеля, при этом наибольшая масса мацерированной ткани наблюдалась у *B. brevis*. Целлюлолитической активностью обладал только один вид бактерий – *B. brevis* (16,6%).

Современная система защиты растений от фитопатогенов предполагает применение биопрепаратов, созданных на основе бактерий-антагонистов, таких как представители рода *Bacillus*. Их антагонистический эффект реализуется посредством продуцирования антибиотических веществ, гидролитических ферментов и ряда других метаболитов, ингибирующих рост патогенов [10].

Наибольшей антагонистической активностью по отношению к тест-культурам бактерий и грибов обладал *B. simplex*, ингибирующий рост всех четырех тест-культур бактерий и подавлявший развитие фитопатогенных грибов на 21-53 %. Способность подавлять рост некоторых грибов наблюдалась у *B. decolorationis*, а *B. brevis* ингибировал рост 75 % тест-культур бактерий.



## Выводы

1. Было выделено 47 видов ассоциативных микроорганизмов трофической цепи каштановая минирующая моль *C. ohridella* – конский каштан обыкновенный *A. hippocastanum*. Из объектов изолировано 7 родов бактерий (*Bacillus*, *Brevibacillus*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Staphylococcus*) и 6 родов грибов (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus*).

2. Количественные показатели выделенных бактерий в здоровых листьях, в минах без гусениц и гусеницах варьировали от  $10^2$  до  $10^5$  КОЕ. В I поколении доминировал род *Bacillus*, во II – *Brevibacillus*, а в III поколении доминантным родом являлся *Microbacterium*. Количественные показатели грибов в здоровых листьях, в пустых минах и гусеницах также варьировали от  $10^2$  до  $10^5$  КОЕ. В I поколении доминировал род *Aspergillus*, во II поколении – род *Alternaria*, а в III поколении доминантным родом был *Cladosporium*.

3. Было установлено, что 80 % изолированных штаммов гидролизуют крахмал. 100 % доминантов использовали глюкозу. 69 % исследуемых бактерий в качестве органического источника азота использовали желатин. 100 % штаммов доминантных микроорганизмов использовали нитраты и соли аммония.

4. Наибольшей антагонистической активностью по отношению к бактериям и грибам обладал *B. simplex*. Способность подавлять рост некоторых грибов наблюдали у *B. decolorationis*. *B. brevis* был способен ингибировать рост 75 % тест-культур бактерий.

5. Оценка факторов фитопатогенности показала, что 50 % исследуемых бактерий (*B. decolorationis*, *B. brevis*, *M. imperiale*) продуцируют пектолитические ферменты, вызывая мацерацию растительных тканей

картофеля. Наибольшим фитопатогенным потенциалом обладал *B. brevis*, который был единственным видом, сочетающим пектолитическую и целлюлолитическую активность.

## Список использованных источников

- 1 Иванцов, О. Я. К вопросу о влиянии *Cameraria ohridella* на каштановые насаждения городов (на примере г. Луцк) / О. Я. Иванцов // Современные энерго - и ресурсосберегающие, экологически устойчивые технологии и системы сельскохозяйственного производства: сборник трудов научных чтений. – Рязань, 2014. – Вып. 11. – С. 174–178.
- 2 Инвазии насекомых-вредителей и грибных патогенов древесных растений на северо-западе европейской части России / А. В. Селиховкин [и др.] // Вестник Санкт-Петербургского университета. Науки о Земле. – 2020. – Вып. 65. – С. 263–283.
- 3 Ревяко, И. И. Декоративность *Aesculus hippocastanum* в условиях урболандшафта «новочеркасск» / И. И. Ревяко, В. С. Манченко, Е. И. Ревяко // Известия высших учебных заведений. Лесной журнал. – 2019. – Вып. 1. – С. 52–62.
- 4 Аникин, В. В. К распространению и экологии каштановой минирующей моли *Cameraria ohridella* на территории г. Саратова в 2019 г. / В. В. Аникин, Е. Ю. Мосолова // Энтомологические и паразитические исследования в Поволжье. – 2019. – Вып. 16. – С. 79–84.
- 5 A complex invasion story underlies the fast spread of the invasive box tree moth (*Cydalima perspectalis*) across Europe / Bras A. [et al.] // Journal of Pest Science. – 2019. – Vol. 92. – P. 1187 – 1202.
- 6 Гвиненко, Ю. И. Охридский минер *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae) – обнаружение в Центральной Азии / Ю. И. Гвиненко, Н. С. Мухамадиев, Н. Ж. Ашикбаев // Российский журнал биологических инвазий. – 2016. – Т. 9., Вып. 4. – С. 14–18.
- 7 Zemek, R. Pests and pathogens of urban trees / R. Zemek, K. Pastircakova // Forests. – 2023. – Vol. 14, № 8. – P. 1653.
- 8 Аникин, В. В. Первая достоверная находка каштановой минирующей моли *Cameraria ohridella* Deschka et Dimic 1986 на территории

Нижнего Новгорода / В. В. Аникин, А. С. Сажнев // Журнал полевого биолога.  
– 2021. – Т. 3, № 4. – С. 322–324.

9 Желдакова, Р. А. Фитопатогенные микроорганизмы /  
Р. А. Желдакова, В. Е. Мямин. – Минск: БГУ, 2006. – 89 с.

10 Биотехнологический потенциал бактерий рода  
*Bacillus zhangzhouensis*, выделенных из ризосферы растений / Ф. А. Меликузиев  
[и др.] // Фундаментальные и прикладные аспекты микробиологии в науке и  
образовании: сборник материалов IV международной научно-практической  
конференции. – Рязань, 2025. – С. 76–77.

Анн.