

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

УГ
26.11.25

Е.В. Глинская

Зав. кафедрой:

д. б. н., доцент

Д.У
26.11.25

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 энтомо- 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-P, а также культуры следующих грибов: *Aspergillus tereus*, *Cirneularia lunata*, *Fusarium dimerium*, *F. oxysporum*, *Penicillium meleagrinum*, *P. varottii*, *Rhizopus* sp., *Sporodiobolus 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 посеван 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 мацерирующей активности проводили путем заражения стерильных ломтиков картофеля и моркови 18-часовой культурой бактерий. На срезы толщиной 1 см и площадью 2–3 см² 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, дисахарины, 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 °C (52 % штаммов), pH 9 (79 %) и содержании NaCl 2 % (100 %). При температуре 43 °C 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 биопрепараторов, 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-культурям бактерий и грибов обладал *B. simplex*, ингибировавший 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 гидролизовали 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 урбокландаша «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 ризосфера 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.

А.Н.