Елубаева Акмейір Елубайқызы

по специальности 8D05105 – Биотехнология

диссертации на соискание степени доктора философии (Ph.D)

АННОТАЦИЯ

на тему: **«Разработка микробного препарата для борьбы с бактериальным ожогом плодовых культур»**

Общая характеристика работы. Диссертационная работа посвящена разработке биопрепарата против бактериального ожога плодовых культур, вызываемого патогенной бактерией *Erwinia amylovora* Е22. В ходе мониторинговых исследований определен ареал данной болезни в садовых ценозах Казахстана. Выделен штамм молочнокислой бактерии *Lacticaseibacillus paracasei* М12 с высокой антагонистической активностью против возбудителя бактериального ожога. Определен компонентный состав биологически активных веществ, продуцируемого данным микроорганизмом. На основе штамма *L. paracasei* М12 был разработан биопрепарат «Лактин АС», который прошел испытания на различных сортах и экологических зонах садоводства Казахстана. Биологическая эффективность его против возбудителя *E. amylovora* Е22 составила 90,7%. Биопрепарат «Лактин АС» значительно снижает развитие бактериального ожога и является альтернативой существующим пестицидам.

Актуальность темы исследования. Бактериальный ожог, вызываемый фитопатогенной бактерией *Erwinia amylovora* Е22*,* представляет серьёзную угрозу для плодовых насаждений, особенно в регионах с благоприятными агроклиматическими условиями, таких как южные и юго-восточные области Казахстана. Патоген поражает широкий спектр семечковых культур, включая яблоню (*Malus domestica*), грушу (*Pyrus communis*) и ряд других плодовых растений, вызывая некроз тканей, усыхание побегов и гибель деревьев. Заболевание характеризуется высокой скоростью распространения и трудностью контроля, что обуславливает значительные экономические потери. Последствия инфекции включают как прямые убытки от утраты урожая, так и косвенные затраты, связанные с проведением санитарных мероприятий, включая удаление заражённых деревьев, дезинфекцию почвы и восстановление плодовых агроценозов.

В настоящее время эффективных мер против возбудителя бактериального ожога *E. amylovora* Е22 не существует. Научно рекомендуемые меры борьбы с этим заболеванием - обрезка пораженных ветвей или выкапывание деревьев с корнями, их удаление и обработка медьсодержащими препаратами и антибиотиками. Химические методы контроля используются для уменьшения прогрессирования инфекции и предотвращения новых инфекций. Современные бактерициды, кроме медьсодержащих, не действуют на возбудителя ожога. К сожалению, в настоящее время в республике нет ни одного отечественного препарата для борьбы с бактериальным ожогом плодовых культур. Поэтому создание и производство отечественного

биопрепарата против возбудителя ожога позволит снизить зависимость от импортных поставок препаратов. Использование биопрепаратов для борьбы с возбудителем *E. amylovora* E22 является наиболее перспективным направлением при разработке методов получения экологически чистой продукции, что имеет как социальное и экономическое значение для развития сельского хозяйства.

Цель работы: Разработать микробный биопрепарат против возбудителя бактериального ожога плодовых культур *E. amylovora E22* и определить его биологическую эффективность.

Задачи исследовательской работы:

1. Мониторинг плодовых культур Южного Казахстана на наличие бактериального ожога и скрининг микроорганизмов с ингибиторной активностью.
2. Анализ метаболического состава культуральной жидкости штамма, обладающего активными антагонистическими свойствами, и молекулярно-генетическая идентификация микроорганизмов.
3. Изучение фитотоксичности биопрепарата «Лактин АС», созданного на основе штамма *Lacticaseibacillus paracasei* M12.
4. Изучение влияния микробного препарата «Лактин АС» на биохимические метаболиты плодовых культур.
5. Разработка микробного препарата против бактериального ожога на основе перспективного антагонистического штамма и определение его биологической эффективности.

Объекты исследования

В качестве плодовых культур рассматривались яблони сортов *«Zarja Alatau», «Aport», «Star Krimson»*, а также груша сорта «Шығыс».

Возбудитель бактериального ожога *E. amylovora* E22 был выделен из экссудата повреждённого плода яблони сорта «Апорт», собранного в крестьянском хозяйстве Карасайского района Алматинской области.

Штаммы микроорганизмов, грибов и актиномицетов были получены из коллекции ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии».

Штамм *Lacticaseibacillus paracasei* M12 был выделен из филлосферы плодового сада Алматинской области.

Методы исследования. В ходе проведения исследования применялись классические фитопатологические, микробиологические, биохимические, молекулярно-генетические, а также физико-химические методы анализа.

Научная новизна исследовательской работы. Научная новизна диссертационной работы заключается в том, что на основе активного антагонистического штамма молочнокислой бактерии *Lacticaseibacillus paracasei* M12, адаптированного к природно-климатическим условиям Казахстана, впервые в стране разработан оригинальный микробный препарат, направленный против возбудителя бактериального ожога плодовых культур.

Теоретическая значимость и практическая ценность исследования. Бактериальный ожог является одним из наиболее опасных заболеваний

плодовых культур. Создание биопрепарата на основе микроорганизмов-антагонистов против бактериального ожога плодовых культур позволит значительно снизить зависимость от импортных поставок препаратов. Биопрепарат «Лактин АС» - отличная альтернатива химическим препаратам для защиты растений. Он содержит биологически активные метаболиты и абсолютно безопасен для человека. Этот препарат имеет ряд преимуществ:

1. Биопрепарат не токсичен для людей и животных, что делает его безопасным для использования в домашнем хозяйстве и садоводстве.

2. Легкость использования: приготовление рабочего раствора с биопрепаратом «Лактин АС» не требует особых навыков и доступно даже неопытным садоводам. Кроме того, потребление биопрепарата для приготовления раствора значительно меньше по сравнению с химическими препаратами.

3. Биологическая эффективность биопрепарата «Лактин АС» против возбудителя бактериального ожога составила 90,7%. После опрыскивания плодовые культуры становятся невосприимчивыми к возбудителю бактериального ожога, что обеспечивает их длительную защиту. Эти характеристики только делают биопрепарат «Лактин АС» эффективным.

Основные положения, рекомендуемые к защите:

1. Против возбудителя *E. amylovora* Е22 отобраны штаммы, сдерживающие рост бактериального ожога плодовых культур и показавшие высокую антагонистическую активность - из почвы 2 штамма (16.2, 19.2) и 1 штамм М12, отобранный из филлосферы ценозов садовых растений.

2. В компонентном составе культуральной жидкости штамма *L. paracasei* М12 выявлены три основных компонента, оказывающие бактерицидное действие против возбудителя бактериального ожога - это уксусная кислота, молочная кислота и 2,3-бутандион.

3. Препарат «Лактин АС» разработан на основе штамма *L. paracasei* М12, который позволяет защитить плодовые деревья от бактериального ожога с эффективностью 90,7% при двукратном применении в фазах «до цветения» и «после полного цветения».

Основные результаты и итоги научной работы

1. В ходе мониторинга плодовых культур в хозяйствах Южно-Казахстанского региона (Алматинская, Жамбылская и Туркестанская области) были выявлены вспышки бактериального ожога, вызванного *Erwinia amylovora*, не только на яблоне и груше, но также на сливах, вишне, айве, персике и дикорастущих косточковых породах. Распространение и развитие болезни проявлялись в различной степени в зависимости от зоны произрастания, сортовых особенностей растений и погодных условий. В результате проведённого скрининга антагонистической активности микроорганизмов были выделены три штамма с высокой ингибиторной активностью против *E. amylovora* Е22, выделенного из поражённых плодов яблони сорта «Апорт» (Карасайский район, Алматинская область). Изоляты 16.2 и 19.2, полученные из почвы Туркестанской и Жамбылской областей соответственно, демонстрировали зоны ингибирования роста патогена 52,2 ±

0,5 мм и 45,6 ± 0,5 мм. Изолят М12, выделенный из филлосферы садового ценоза Алматинской области, обеспечил зону подавления 41,5 ± 0,5 мм. Молекулярно-генетическая идентификация показала, что изолят М12 принадлежит к виду *Lacticaseibacillus paracasei*, тогда как изоляты 16.2 и 19.2 отнесены к роду *Pseudomonas* sp.

2. Антагонистические свойства штамма *L. paracasei* М12 обусловлены продукцией органических кислот и летучих метаболитов: уксусная кислота (48,7%), молочная кислота (4,8%) и 2,3-бутандион (4,2%). Эти соединения обладают выраженным антимикробным действием и рассматриваются как основные факторы, обеспечивающие ингибирование роста *E. amylovora* Е22.

3. Фитотоксичность биопрепарата «Лактин АС», разработанного на основе штамма *L. paracasei* М12, была оценена на культурах пшеницы и огурца. Результаты показали, что концентрации препарата в диапазоне от 0,1% до 0,5% способствовали улучшению показателей роста пшеницы, в то время как для огурца оптимальными оказались концентрации от 0,05% до 0,5%. При 100% концентрации препарата наблюдалось угнетение роста обеих культур. Таким образом, низкие и средние концентрации биопрепарата способствуют активации роста растений, тогда как высокие концентрации проявляют фитотоксичное действие.

4. Физиолого-биохимический анализ растений, обработанных препаратом, показал значительное повышение активности антиоксидантных ферментов - каталазы (КАТ) и пероксидазы (ПОА), особенно у грушевых листьев. Одновременно наблюдалось снижение активности аскорбатоксидазы (АПО) и циклооксигеназы (ЦОД), что свидетельствует о перестройке антиоксидантной системы растений и активации защитных механизмов в условиях стрессовой нагрузки. Биопрепарат также способствовал увеличению содержания фотосинтетических пигментов (хлорофилл a, b и каротиноиды) в листьях яблони, особенно у сорта КТ10, что указывает на улучшение фотосинтетической активности и повышение устойчивости растений к стрессу. Максимальный физиологический эффект наблюдался на 30-е сутки после обработки, преимущественно у дикорастущих сортов; к 60 суткам активность снижалась, что может указывать на исчерпание действия препарата.

5. В модельных и производственных опытах по испытанию биопрепарата в садовых ценозах биологическая эффективность биопрепарата «Лактин АС» при норме расхода 5 л/га при двукратной (1-я - фаза «бутонизации», 2-я – «полное цветение») обработке на устойчивом сорте яблони «Старкримсон» составила - 90,7%. Разработаны «Стандарт организации» и «Технологическая инструкция» на производство биопрепарата «Лактин АС» на основе штамма молочнокислых бактерий *L. paracasei* M_{12}, предназначенного против бактериальных ожога плодовых культур.

Апробация, одобрение результатов работы и личной вклад автора. Материалы, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, опубликованы в 13 научных работах, в том числе в 3 статьях в рецензируемых

зарубежных научных изданиях: 2 статьи в международных рецензируемых научных журналах, индексируемых в базах данных Web of Science или Scopus и входящих в квартиль Q2 с ненулевым импакт-фактором; 1 статья в международных рецензируемых научных журналах, входящих в квартиль Q1; 6 статей в республиканских научных изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки Республики Казахстан; 5 тезисов опубликованы в трудах международных конференций. По результатам диссертационной работы подана заявка на выдачу патента Республики Казахстан, которая прошла формальную экспертизу.

Личный вклад диссертанта. Самостоятельно провел анализ литературных данных по теме исследования, экспериментальную работу, статистическую обработку, анализ результатов исследования и подготовку рукописи диссертации.

Связь работы с программой научного исследования. Диссертационная работа выполнена в рамках программы BR 18574022 «Микробные препараты против возбудителя бактериального ожога плодовых культур». Научный руководитель программы: доктор биологических наук, профессор Саданов А.К.

Структура и объем диссертационной работы. Диссертация состоит из 116 страниц, нормативных ссылок, обозначений и сокращений, введения, обзора литературы, объектов исследования, материалов и методов, результатов исследования и их обсуждения, заключения, 241 ссылок, 27 таблиц, 48 рисунков.