

УДК 579.695

ПЕРВИЧНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПРОБ СЕМЕННОГО КАРТОФЕЛЯ

Майоров П.С., Мартынова К.В., аспиранты факультета ветеринарной медицины и биотехнологии, Феоктистова Н.А., кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ, Васильев Д.А., доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ, Ульяновск, Россия

Ключевые слова: *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus*, картофель, биохимические, культуральные, тинкториальные свойства.

В работе представлены результаты исследований проб семенного картофеля сорта «Пензенская скороспелка». Выделено 9 культур микроорганизмов, изучены тинкториальные, культуральные и некоторые биохимические свойства. Установлена первичная принадлежность культуры № 4 к *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus*, возбудителю кольцевой гнили картофеля.

Введение. В настоящее время инфекции картофеля, являющегося одной из важнейших пищевых культур в мире, приводят к огромным ежегодным потерям данного вида продукции. Одним из самых распространенных заболеваний являются кольцевая гниль картофеля, вызванная грамположительной бактерией - *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* (Cms) [1-2]. Вредоносность кольцевой гнили картофеля напрямую связана с наличием латентных форм инфекции, что крайне затрудняет диагностику заболевания и отбраковку зараженных растений [3-4].

Целью работы - изучение биологических свойств фитопатогенных микроорганизмов, выделенных из образцов растительной ткани семенного картофеля, и их типирование на выявление Cms.

Материалы и методика исследований. Объектами исследований послужили клубни семенного картофеля сорта «Пензенская скороспелка» с признаками порчи. Высевы производили с поверхности и со

срезом клубня картофеля на мясо-пептонный бульон и культивировали при температуре 24 ± 1 °С. Через 24 часа культивирования осуществляли пересев культур на картофельный агар и культивировали в термостате при различных температурных условиях – 12 ± 1 и 24 ± 1 °С в течение 120 часов. В результате исследования для дальнейших экспериментов было 9 культур.

Биологические свойства (тинкториальные, культуральные и биохимические) выделенных культур изучали по методикам, отработанным сотрудниками кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновской ГСХА [5-7].

Для диагностики и дифференциации микроорганизмов по способности избирательно сбраживать углеводы с образованием кислоты и газа использовали среды Гисса. Тест на подвижность проводили на полужидком МПА. В качестве положительного контроля использовали в работе 2 штамма *Clavibacter michiganensis* и *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* из музея НИИЦМиБ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ.

Результаты исследований. В результате исследований картофеля сорта «Пензенская скороспелка» с признаками порчи картофеля установлено, что после 120 часов культивирования наибольший рост колоний наблюдается при температуре 24 ± 1 °С. При этом рост культур после культивирования при 12 ± 1 °С либо был незначителен, либо отсутствовал совсем.

Установлено, что изучаемые культуры – это грамположительные неподвижные палочки, спор и капсул не имеют. Располагаются парами или небольшими цепочками.

При изучении культуральных свойств установлено, что после культивирования на картофельном агаре отмечается рост как белых, так и пигментированных (желтых, оранжевых, розовых) непрозрачных, круглых, слабо приподнятых колоний с ровными краями. Структура колоний однородная и мелкозернистая.

По результатам теста на подвижность были получены следующие результаты: к подвижным микроорганизмам относятся культуры 1, 2, 3, 6, 9; к неподвижным микроорганизмам относятся культуры 4, 5, 7, 9. Далее был произведен посев на среды Гисса (параметры культивирования) при 24 ± 1 °С в течение 48-72 часов. Также изучалась способность культур пептонизировать молоко и продуцировать сероводород, аммиак и индол.

Результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты исследований

Проба	Названия биохимического показателя												
	Лактоза	Глюкоза	Дульцит	Инозит	Ксилоза	Мальтоза	Маннит	Сахароза	Сорбит	Пентониза- ция молока	Сероводород	Индол	Аммиак
1	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
2	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
3	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+
4	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
7	+	-	-	-	-	+	-	+/	-	+	+	-	-
8	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
9	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
<i>Clavibacter michiganensis</i>	+	+	н/д	н/д	н/д	н/д	-	н/д	-	+	+	-	-
<i>Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus</i>	-	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	+	н/д	+	-	-	-	-

Проведенные исследования и полученные данные тинкториальных культуральных и некоторых биохимических свойств культур, выделенных с поверхности и со срезов клубня картофеля сорта «Пензенская скороспелка», позволяет сделать первичный вывод о принадлежности культур к виду *Clavibacter michiganensis* и конкретнее *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus*. Для точной идентификации требуются дополнительные исследования.

Библиографический список:

1. Омеличкина, Ю.В. Действие возбудителя кольцевой гнили картофеля на суспензионные культуры клеток табака и картофеля / Ю. В. Омеличкина, Т. Н. Шафикова, Е. Г. Рихванов, А. Г. Еникеев, А. С. Романенко // ИЗВЕСТИЯ Иркутского государственного университета. - 2008. -Т. 1, № 1. - С. 63–67.
2. Growth Behavior of Phytopathogen *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* Treated with Selenium Biocomposites of Mushroom Origin / A.I. Perfilova, O.M. Tsivileva, O.V. Koftin Journal of Stress Physiology & Biochemistry, Vol. 12 No. 1 2016, pp. 13-20
3. *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* - URL: http://www.eppo.int/QUARANTINE/data_sheets/bacteria/CORBSE_ds.pdf - дата обращения 12.10.2016.
4. *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* (Spieckermann & Kothoff) Davis et al. - Кольцевая гниль картофеля - URL: http://www.agroatlas.ru/ru/content/diseases/Solani/Solani_Clavibacter_michiganensis_subsp_sepedonicus/ - дата обращения 12.10.2016.
5. Кудряшова, К.В. Изучение видового разнообразия бактерий рода *Vacillus*, контаминирующих корне- и клубнеплоды / К.В. Кудряшова, Н.А. Феоктистова, М.А. Лыдина, Д.А. Васильев, Б.И. Шморгун // В сборнике: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: материалы VI Международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2015. - С. 95-98.
6. Майоров, П.С. Определение параметров культивирования бактерий рода *Alcaligenes* в отходах гальванического производства / П.С. Майоров, К.В. Шокина. Н.А. Феоктистова // Новая наука: проблемы и перспективы: международное научно-периодическое издание по итогам международной научно практической конференции 4 ноября 2015 года. – Стерлитамак, РИЦ Ами, 2015. – С. 8-11.

7. Феоктистова, Н.А. Результаты сравнительного анализа бактериологических методов исследований какао-порошка на наличие бацилл, вызывающих порчу продуктов питания (БВППП) / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2015. - № 1 (29). - С. 69-77.

PRIMARY IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISMS ALLOCATED FROM TESTS OF SEED POTATOES

Mayorov P. S., Martynova K.V., Feoktistova N.A., Vasilyev D.A.

Keywords: *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus*, potatoes, biochemical, cultural, tinktorialny properties.

*In work results of researches of tests of seed potatoes of a grade "The Penza skorospelka" are presented. 9 cultures of microorganisms are marked out, tinktorialny, cultural and some biochemical properties are studied. Primary belonging of culture No. 4 to *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus*, to the activator of ring decay of potatoes.*