

УДК 579.64

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИОФАГОВ *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM* ДЛЯ ДЕКОНТАМИНАЦИИ ПИЩЕВОГО СЫРЬЯ

*Ершова Е.Н., магистрант 2 курса факультета ветеринарной
медицины и биотехнологии, elena.karaseva.95@mail.ru*
*Научный руководитель – Феоктисова Н.А., кандидат
биологических наук, доцент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: *Pectobacterium carotovorum*, деконтаминация, фаговый биопрепарат, клубни, картофель.

В статье представлены результаты исследований по оценке эффективности применения бактериофагов *Pectobacterium carotovorum* для деконтаминации пищевого сырья. Экспериментально определено, что элиминация *Pectobacterium carotovorum* с поверхности картофеля как семенного, так и товарного способом фаг-опосредованного биопроецирования успешно снижает мацерацию тканей клубней, оставляя им и придавая продовольственный вид.

Бактерии *Pectobacterium carotovorum* – возбудитель черной ножки картофеля, черной ножки томата, мокрой гнили плодов растений видов семейства Пасленовых. Фитопатоген сильно вредит томатам и картофелю. Проникает в основном через механические поранения поверхностных тканей. Стебли загнивают вблизи субстрата, плоды – рядом с плодоножками. Бактерии выделяют в ткани ферменты и вызывают мацерацию клеток, распадение тканей и образование полостей, из которых вытекает беловатый экссудат. Заболевания имеют небольшой инкубационный период (мокрая гниль – от 2 до 9 дней, черная ножка – от 2 до 7 дней) и может привести к значительному снижению качественных и количественных характеристик урожайности [1-3].

Оценка эффективности применения бактериофагов *Pectobacterium carotovorum* для деконтаминации пищевого сырья проводилась на семенном картофеле, культивируемом в Ульяновской области, и товарном. Образцы семенного и товарного картофеля в НИИЦ-МиБ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ изучали в период с 21.09.2020 по 05.10.2020 г.

Исследования проводили методами, отработанными и модифицированными сотрудниками ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ [4-10].

Способ искусственного инфицирования предусматривал инокуляцию клубней путем погружения в бактериальную суспензию (24-часовые культуры *P. carotovorum* в титре 1×10^8 КОЕ/мл). Эффективность инокуляции клубней семенного и товарного картофеля изучали в лабораторных условиях. В каждом варианте было взято по 50 клубней семенного и 50 товарного картофеля. Контролем служили инокулированные клубни картофеля без обработки. Обработку клубней семенного и товарного картофеля биопрепаратом на основе консорциума (объединения) бактериофагов, изучали способом погружения в фаговый биопрепарат.

Методика обработки клубней семенного и товарного картофеля: погружали клубни картофеля в рабочую смесь биопрепарата с 10 литрами воды, включающей бактериофаги в концентрации 10^7 БОЕ/мл по любому компоненту. Были обработаны клубни в количестве 100 штук массой в среднем 95 г. Общий вес пробы составил 9500 г.

Все образцы картофеля были оценены органолептическим характеристикам. Клубни семенного картофеля целые с окрепшей кожурой, по форме и окраске типичными для соответствующего ботанического сорта. Клубни товарного картофеля целые, сухие, незагрязненные, однородные по форме и окраске (таблице 1).

Итоги на 15 сутки исследуемых образцов (в таблице 4), схожи с итогами на 10 сутки контрольных образцов, что может доказывать тот факт, что порча продукта наступает на пятые сутки. Так как показатели вышли за нормы указанные в СанПиН 2.3.2.1078-01 [11], ТР ТС 021/2011 [12], которые указывают что показатели не должны превышать 10^4 КОЕ/г, было принято решение завершить исследование данного этапа.

Далее приведены показатели (таблица 5) исследования до деkontаминации семенного и товарного картофеля в условиях хранения в течение 15 суток, используя нормативно-техническую документацию [13-14].

Нами установлено, что поражения в клубнях были равны индексу в 1,5 у семенного и у товарного 1,6. Повреждения в инакулированных и обработанных физиологическим раствором пробах семенного картофеля дали индекс - 10,2, а у товарного индекс составил 10,4. Установлено, что элиминация *Pectobacterium carotovorum* с по-

Таблица 1 – Результаты эксперимента по деконтаминации семенного и товарного картофеля на 1 сутки

21.09.2020	Титр, КОЕ/г	Внешний вид клубней	
		товарный	семенной
Опыт 1	2,3x10 ¹	Клубни семенного картофеля целые	Клубни целые, сухие, однородные по форме и окраске
Опыт 2	1,2x10 ¹	Клубни семенного картофеля целые	Клубни целые, сухие, однородные по форме и окраске
Опыт 3	2,4x10 ¹	Клубни семенного картофеля целые	Клубни целые, сухие, однородные по форме и окраске
Среднее значение	1,9x10 ¹	Клубни семенного картофеля целые	Клубни целые, сухие, однородные по форме и окраске
Контроль 1	7,1x10 ²	Клубни семенного картофеля целые	Клубни целые, сухие, однородные по форме и окраске
Контроль 2	9x10 ²	Клубни семенного картофеля целые	Клубни целые, сухие, однородные по форме и окраске
Контроль 3	7,9x10 ²	Клубни семенного картофеля целые	Клубни целые, сухие, однородные по форме и окраске
Среднее значение	8x10 ²	Клубни семенного картофеля целые	Клубни целые, сухие, однородные по форме и окраске

Таблица 2 – Результаты эксперимента по деконтаминации семенного и товарного картофеля на 10 суток

30.09.2020	Титр, КОЕ/г	Внешний вид клубней	
		Семенной	Товарный
Опыт 1	1,5x10 ³	Клубни семенного картофеля целые, без видимых повреждений	Клубни целые, без видимых повреждений
Опыт 2	6,4x10 ³	Клубни семенного картофеля целые, без видимых повреждений	Клубни целые, без видимых повреждений
Опыт 3	6,9x10 ³	Клубни семенного картофеля целые, без видимых повреждений	Клубни целые, без видимых повреждений
Среднее значение	4,9x10 ³	Клубни семенного картофеля целые, без видимых повреждений	Клубни целые, без видимых повреждений
Контроль 1	4,3x10 ⁴	Клубни семенного картофеля с заметными участками повреждения	Клубни картофеля с заметными участками повреждения

**Экспертиза пищевого сырья и вопросы
продовольственной безопасности**

30.09.2020	Титр, КОЕ/г	Внешний вид клубней	
		Семенной	Товарный
Контроль 2	3,2x10 ⁴	Клубни семенного картофеля с заметными участками повреждения	Клубни картофеля с заметными участками повреждения
Контроль 3	8,3x10 ⁴	Клубни семенного картофеля с заметными участками повреждения	Клубни картофеля с заметными участками повреждения
Среднее значение	5,2x10 ⁴	Клубни семенного картофеля с заметными участками повреждения	Клубни картофеля с заметными участками повреждения

Таблица 3 – Результаты эксперимента по деконтаминации семенного и товарного картофеля на 12 суток

02.10.2020	Титр, КОЕ/г	Внешний вид клубней	
		Семенной	Товарный
Опыт 1	8,2x10 ³	Клубни семенного картофеля целые, без видимых повреждений	Клубни картофеля целые
Опыт 2	5,3x10 ³	Клубни семенного картофеля целые, без видимых повреждений	Клубни картофеля целые
Опыт 3	4,7x10 ³	Клубни семенного картофеля целые, без видимых повреждений	Клубни картофеля местами повреждены
Среднее значение	6x10 ³	Клубни семенного картофеля целые, без видимых повреждений	Клубни картофеля местами повреждены
Контроль 1	8,6x10 ⁵	Клубни семенного картофеля с заметными участками повреждения	Клубни картофеля с заметными участками повреждения
Контроль 2	9,1x10 ⁵	Клубни семенного картофеля с заметными участками повреждения	Клубни картофеля с заметными участками повреждения
Контроль 3	8,8x10 ⁵	Клубни семенного картофеля с заметными участками повреждения	Клубни картофеля с заметными участками повреждения
Среднее значение	8,8x10 ⁵	Клубни семенного картофеля с заметными участками повреждения	Клубни картофеля с заметными участками повреждения

Таблица 4 – Результаты эксперимента по деконтаминации семенного и товарного картофеля на 15 суток

05.10.2020	Титр, КОЕ/г	Внешний вид клубней	
		Семенной	Товарный
Опыт 1	8,2x10 ⁴	Клубни семенного картофеля целые, местами локально повреждённые	Клубни картофеля с локализованными повреждения
Опыт 2	9,4x10 ⁴	Клубни семенного картофеля целые, местами локально повреждённые	Клубни картофеля с локализованными повреждения
Опыт 3	7x10 ⁴	Клубни семенного картофеля целые, местами локально повреждённые	Клубни картофеля с локализованными повреждения
Среднее значение	8,2x10 ⁴	Клубни семенного картофеля целые, местами локально повреждённые	Клубни картофеля с локализованными повреждения
Контроль	10 ⁶	Некондиционный продукт (согласно СанПиН 2.3.2.1078-01)	

Таблица 5 – Показатели исследования до деконтаминации семенного и товарного картофеля в условиях хранения в течении 15 суток.

Образцы картофеля	Индекс поражения	Степень пораженной ткани (мацерация)	Количество инфицированных клубней	
			Семенной (ГОСТ 33996-2016)	%
Инакулированные пектобактериями и обработанные фаговым препаратом (опыт)	1,5	Локальный участок поражения	1,4/30	4,4
Инакулированные пектобактериями и обработанные физ.раствором (контроль)	10,2	Локальный участок поражения	28/30	91
			Товарный (ГОСТ 7194-81)	
Инакулированные пектобактериями и обработанные фаговым препаратом (опыт)	1,6	Локальный участок поражения	1,7/30	5,3
Инакулированные пектобактериями и обработанные физ.раствором (контроль)	10,4	Видны признаки мокрой гнили	28,7/30	95

верхности картофеля как семенного, так и товарного способом фагопосредованного биопроцессинга успешно снижает мацерацию тканей клубней, оставляя им и придавая продовольственный вид.

Библиографический список:

1. Исследование некоторых биологических свойств бактериофагов *Pectobacterium carotovorum*/ Б.Ж. Рыскалиева, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, Е.А. Ляшенко // Материалы национальной научно-практической конференции «Зыкинские чтения». - Саратов, 2020.- С. 133-137.
2. Применение реакции нарастания титра фагов для обнаружения бактерии мягкой гнили/ Б.Ж. Рыскалиева, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, Е.А. Ляшенко // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки.- 2020.- № 3-2.- С. 26-28.
3. Разработка и апробация бактериологической схемы идентификации бактерий *Pectobacterium carotovorum*/ Б.Ж. Рыскалиева, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, Е.А. Ляшенко // Таврический вестник аграрной науки.- 2020.- № 2 (22). - С. 134-142.
4. Biological properties of bacteriophages *Pectobacterium carotovorum sub sp. carotovorum*/ B.Zh. Ryskaliyeva, N.A. Feoktistova, D.A. Vasilyev, E.A. Lyashenko, A.L. Toigildin, I.A. Toigildina, I.I. Bogdanov, A.A. Nafeev, I.L. Obuhov, V.I. Shmorgun // Ambient Science. - 2020.- Т. 7. № 2. - С. 6.
5. Разработка метода фагоиндикации бактерии *Pseudomonas syringae* в объектах санитарного надзора / Н.А. Феоктистова, А.К. Беккалиева, Д.А. Васильев, Е.В. Сульдина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.- 2020.- № 3 (51).- С. 148-157.
6. Изучение биологических свойств бактериофагов *Bacillus coagulans*/ Н.А. Феоктистова, К.В. Мартынова, Д.А. Васильев, Д.Д. Хусаинова, Е.В. Сайгушева, Г.З. Балтаева, М.И. Сулейманова // Материалы Национальной научно-практической конференции «Актуальные проблемы аграрной науки: состояние и тенденции развития». – Ульяновск, 2019.- С. 149-152.
7. Изучение культуральных свойств бактерий *Pectobacterium carotovorum spp. carotovorum*/ Б.Ж. Рыскалиева, Н.А. Феоктистова, Е.А. Ляшенко // Сборник научных трудов Международной научно-практической конференции «Инновационные достижения науки и техники АПК». – Самара, 2019.- С. 205-208.
8. Бактериофаги *Pectobacterium carotovorum*: выделение, параметры культивирования и биологические особенности / Б.Ж. Рыскалиева, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, Е.А. Ляшенко // Естественные и технические науки.- 2019.- № 8 (134).- С. 33-38.

9. Разработка фагового биопрепарата *Aeromonas hydrophila* для деконтаминации рыбного, мясного сырья и готовых продуктов питания из них/ Д.А. Васильев, А.В. Алёшкин, С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова, К.В. Мартынова, И.Р. Насибуллин, П.С. Майоров, Е.В. Сульдина, А.В. Мاستиленко, А.Г. Шестаков, И.Г. Швиденко, И.Л. Обухов // Естественные и технические науки. - 2018. - № 1 (115). - С. 21-26.
10. Фагоидентификация бактерий *Bacillus megaterium* в молочном и мясном сырье/ Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, И.М. Абдурахманов// Материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов «Молодежь и инновации». - Чебоксары, 2018. - С. 14-17.
11. ГОСТ 33996-2016 Межгосударственный стандарт. Картофель Семенной. Технические условия и методы определения качества Seed potatoes. Specifications and methods of determining the quality – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200143601> - дата обращения 16.09.2020.
12. ГОСТ 7194-81 Межгосударственный стандарт. Картофель свежий. Правила приемки и методы определения качества. Fresh potatoes. Acceptance rules and methods of quality determination – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200006130> - дата обращения 16.09.2020.
13. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 2.3.2.1078-01 – URL: <https://docs.cntd.ru/document/901806306> - дата обращения 16.09.2020.
14. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 О безопасности пищевой продукции – URL: <https://docs.cntd.ru/document/902320560> - дата обращения 16.09.2020.

EVALUATION OF EFFECTIVENESS OF APPLICATION OF BACTERIOPHAGES PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM FOR DECONTAMINATION OF FOOD RAW MATERIALS

Ershova E.N.

Key words: *Pectobacterium carotovorum*, decontamination, phage biologic, tubers, potatoes.

The article presents the results of studies assessing the effectiveness of the use of bacteriophages Pectobacterium carotovorum for decontamination of food raw materials. It was experimentally determined that the elimination of Pectobacterium carotovorum from the surface of potatoes by both seed and commercial phage-mediated bioprocessing successfully reduces the maceration of tuber tissues, leaving them and giving them a food appearance.