

УДК 579.64

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ФАГОВОГО БИОПРЕПАРАТА *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM* НА КЛУБНЯХ КАРТОФЕЛЯ

*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: бактерии, *Pectobacterium carotovorum*, фаговый биопрепарат, эффективность, картофель, обработка

*В статье представлены результаты исследований по оценке эффективности бактериофагового биопрепарата, специфичного для *Pectobacterium carotovorum*, при обработке клубней картофеля. Установлено, что максимальная деконтаминация образцов картофеля зафиксирована через 24 часа, о чем свидетельствует титр фагового биопрепарата. Определено, что фаговые вирионы не были обнаружены через 72 часа после начала эксперимента.*

Бактерии *Pectobacterium carotovorum* – грамотрицательные неспороносные подвижные палочки с перитрихально расположенными жгутиками. Одиночные, или соединены попарно, иногда в коротких цепочках. Размеры: 0,6–1,8x1,7–5,1 мкм. Данный вид бактерий – факультативные анаэробы, что позволяет им вести активную жизнедеятельность внутри плодов и стеблей [1].

На картофеле вышеназванные бактерии вызывают следующие поражения: на всходах – пожелтение нижних листьев, доли листа скручиваются лодочкой, становятся жесткими, верхние листья расположены под острым углом, позднее желтеют, стебель размягчается у основания, загнивает и легко отрывается у корневой шейки; на клубнях – во второй половине вегетации в месте прикрепления клубня к столону появляется размягчение светло-желтого или бесцветного цвета. Позднее сердцевина клубня, от столонной части, начинает загнивать. При этом ткани темнеют, размягчаются, ослизняются и приобретают неприятный запах. При хранении такие клубни являются источником мокрой гнили [2-3].

Цель наших исследований - оценка эффективности бактериофагового биопрепарата, специфичного для *Pectobacterium carotovorum* при обработке клубней картофеля.

В состав экспериментального фагового биопрепарата входили 3 выделенных и селекционированных 3 штамма бактериофагов, специфичных для *Pectobacterium carotovorum* (индикаторные культуры: РСС-11, РСС-21, РСС- 31 из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ.

Выделение бактериофагов и изучение их биологических свойств проводили методами, отработанными и модифицированными сотрудниками ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ [4-10].

Обработанные 70% спиртом, а далее промытые в стерильном физиологическом растворе контрольные и опытные образцы клубней в трех повторениях были искусственно заражены при комнатной температуре на протяжении часа, методом погружения в 5 мл суспензии (*P. carotovorum*) включающей 10^8 КОЕ/мл. После чего исследуемые образцы окунали на сутки в стерильные емкости с 3 мл стерильного фильтрата фаголизата пектобактерий с титром 10^8 БОЕ/мл. Контрольные клубни перемещали в контейнеры, на сутки с 0,9% раствором натрия хлорида такого же объема. Опытные и контрольные образцы обрабатывали бактериофаговым биопрепаратом при температуре 4 ± 2 °С на протяжении суток. Далее рассматривали объем бактериальных клеток на исследуемых образцах методом посева 0,1 мл суспензии, в которой они хранились, на селективную среду СVP (кристалл violet пектат) в таблице 1.

Таблица 1 - Оценка эффективности бактериофагов при обработке клубней

Вид картофеля	Опыт, КОЕ/мл	Контроль, КОЕ/мл
Семенной	$5,2 \pm 1,0$	$5,0 \times 10^3 + 1,0$
Товарной	$6,1 \pm 1,0$	$6,0 \times 10^3 + 1,0$

Уровень пектобактерий в опытной группе сравнительно контрольной снижался, составляя в среднем не больше 10 КОЕ/мл (5,2; 6,1), (что соответствовало группе результативных обеззараживающих средств) в то время как часть бактериальных клеток в контрольных образцах в

6×10^3 , что подтверждает действенность фагового биопрепарата при обработке исследуемых клубней (период обработки 24 часа).

Далее мы оценивали результативность проведенных экспериментов следующим образом: 10 граммовый кусочек картофеля, извлечли от каждого образца, гомогенизировали в 90 мл мясо-пептонного бульона, после чего 1 мл разведения высевали на МПА для определения ОМЧ. Посевы ставили термостат на 24 часа при температуре 28 °С. Титр бактериофагового биопрепарата следующим образом: в суспензии с гомогенизированными кусочками картофеля, полученными по методике, описанной ранее, прибавляли трихлорметан в соотношении 1:10. После этого пробы встряхивали в шуттель-аппарате 30 мин, затем надосадок после 5 минутного отстаивания центрифугировали при 5000 об/мин. Надосадочную жидкость изучали по методике Грациа [8].

В результате исследований было установлено, что максимальная деконтаминация образцов картофеля зафиксирована через 24 часа, о чем свидетельствует титр фагового биопрепарата. Определено, что фаговые вирионы не были обнаружены через 72 часа после начала эксперимента.

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, B.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. Ва-

- сильев, 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.

EXPERIMENTAL APPLICATION OF PHAGE BIOLOGIC PREPARATION *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM* ON POTATO TUBERS

Ershova E.N.

Key words: *bacteria, Pectobacterium carotovorum, phage biologic preparation, efficiency, potatoes, processing,*

The article presents the results of studies to assess the effectiveness of bacteriophage biopreparation specific to Pectobacterium carotovorum in the treatment of potato tubers. It was established that the maximum decontamination of potato samples was recorded after 24 hours, as evidenced by the titer of the phage biologic preparation. It was determined that phage virions were not detected 72 hours after the start of the experiment.