

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM*

Жураев Б.Р., студент 4 курса факультета ветеринарной медицины
и биотехнологии, zygaev.b@mail.ru

Научный руководитель – Феокистова Н.А., к.б.н., доцент
ФГБОУ Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: *Pectobacterium carotovorum*, свойства, биохимические, культуральные, тинкториальные

В данной статье представлены результаты исследований по изучению биологических свойств бактерий *Pectobacterium carotovorum*. Установлено, что исследуемые штаммы проявили типичные свойства на основании данных полученных из Определителя бактерий Берджди.

По литературным данным, бактерии рода *Pectobacterium spp.* являются основной причиной потерь в производстве овощей и декоративных растений. Бактерий вида *Pectobacterium carotovorum* являются некротрофными бактериальными патогенами, вызывающими широкий спектр заболеваний, таких как мягкая гниль, увядание стеблей, на различных растениях-хозяевах по всему миру, особенно на картофеле. Эти заболевания приводят к значительным экономическим потерям и представляют угрозу продовольственной безопасности, снижая урожайность сельскохозяйственных культур в поле, при транспортировке и хранении. Вышесказанное свидетельствует, что изучение биологических свойств бактерий *Pectobacterium carotovorum* для разработки ускоренной схемы их выделения и идентификации – это актуальная тема для исследований [1-3]. Методологическое обеспечение исследований было апробировано сотрудниками кафедры МВЭ и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ [4-6].

Установлено, что *P. carotovorum* 34 и 268 (из коллекции кафедры МВЭ и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ) грамотрицательные, короткие палочки, с округлыми краями. Клетки расположены одиночно, парами, короткими цепочками. Спор и капсул не образуют.

Культуральные свойства штаммов *P. carotovorum* изучали на плотных и жидких средах. Температура культивирования 28°C. На мясо-пептонном бульоне штаммы *P. carotovorum* через 24 часа образуют помутнение среды. На мясо-пептонном агаре *P. carotovorum* через 24 часа образуют гладкие, серовато-белого цвета, приподнятые, блестящие колонии округлой формы с ровными краями. На пектатной среде SL-CVP_{AG-366} *P. carotovorum* образуют погруженные серовато-светло-сиреневого цвета колонии в чашевидных углублениях. На картофельном агаре с 2,3,5 – трифенилтетразолий хлоридом *P. carotovorum* образуют темно-красные колонии с узким бесцветным краем. На картофельном агаре с гениан-виолетом *P. carotovorum* образуют серовато-белого цвета, приподнятые, блестящие гладкие колонии. При посеве в 0,7% агар уколом виден диффузный рост. На среде Кинг в колонии бежево-кремового цвета, округлые колонии, края колонии ровные. Пигмента *P. carotovorum* на среде Кинг в не образуют.

Наличие факторов патогенности определяли следующим образом: клубень картофеля промывали стерильной водой и высушивали. Обработывали 96% этанолом, нарезами диски и помещали в приготовленные заранее чашки Петри с увлажненными, стерильными фильтровальными бумагами. На диски капали суточные культуры и помещали в термостат для культивирования при 28°C. Мацерацию определяли визуально и при прикосновении бактериологической петлей. Присутствовал неприятный запах.

Образование индола, орнитиндекарбоксилазы а также подвижность определялась в одной пробирке на полужидкой среде фирмы «HiMedia». Подвижность и орнитиндекарбоксилазную активность учитывали перед тестом на индол. Исследуемые микроорганизмы дали помутнение среды вокруг линии укола, что указывало на их подвижность. При определении орнитиндекарбоксилазы наблюдали отрицательную реакцию. При добавлении реактива Ковача присутствующий в нем альдегид реагируя с образованным индолом должен образовать комплекс красного цвета. Комплекса красного цвета в виде кольца не наблюдалось. Для определения каталазной и оксидазной активности делали посев на мясо-пептонный агар. При определении каталазы каплю перекиси водорода (3% раствор) наносили на колонии. О присутствии каталазы свидетельствовали пузырьки

водорода. Для определения оксидазы применяли стерильные оксидазные диски во флакончиках из фильтровальной бумаги, пропитанные оксалатом N,N-диметил-парафенилендиамина, аскорбиновой кислотой и а-нафтолом. Оксидазный тест проводили путем снятия микробной колонии и растиранием ее по оксидазному диску. Учет реакции вели в течение 5-10 секунд при 25-30⁰С. Отсутствие изменения цвета на диске или развитие окраски через 60 и более секунд расценивали, как отрицательную реакцию. Протеолитический фермент желатиназу определяли в среде рекомендованной для определения протеолитических свойств микроорганизмов в тесте разжижения желатина фирмы «HiMedia». Так как желатин разжижается при 28⁰С, посевы инкубировали при 35⁰С 72 часа, но перед учетом результатов выдерживали их около 2 часов в холодильнике. Было установлено, что исследуемые культуры разжижали желатин. Для определения лецитиназной активности применяли агар с куриным яичным желтком. Исследуемые нами культуры показали отрицательный результат (цвет среды вокруг колонии оставался без изменений). Казеинолитическую активность определяли при использовании обезжиренного молока. Исследуемые культуры дали положительную реакцию, об этом судили по сгусткам казеина, т.е. произошло свертывание среды. Способность исследуемых культур использовать цитрат в качестве единственного источника углерода проверяли на цитратном агаре Симонса. Исследуемые микроорганизмы в результате размножения изменили цвет среды с зеленого на синий.

Для определения окислительного или ферментативного образования кислоты из углеводов использовали тест Хью-Лейфсона (O/F тест). Исследуемые микроорганизмы образовывали кислоту в обеих пробирках, об этом судили по изменению окраски индикатора.

Определение образования кислоты из глюкозы (тест с метиловым красным или MR-тест) определяли в среде Кларка. Посевы инкубировали при температуре 28⁰С 4 суток. После четырехсуточного роста в среде Кларка добавляли 3-4 капли 0,04 % раствор метилового красного. в результате расщепления глюкозы в среде с исследуемыми культурами произошло кислотообразование,

выявленное с помощью индикатора метилового красного, имеющего красное окрашивание.

Для определения наличия сахаролитических ферментов использовали дифференциально-диагностические среды Гисса с сорбитом, сахарозой, лактозой, раффинозой, рамнозой, мальтозой фирмы «Биотехновация». Исследуемые культуры сеяли в пробирки уколом. Культивировали 24-72 часа при 28⁰С. Образование кислоты отмечали по изменению цвета индикатора.

По результатам биологических свойств исследуемые штаммы проявили типичные свойства на основании данных полученных из Определителя бактерий Берджи [7].

Библиографический список:

1. Разработка схемы выделения и бактериологической идентификации бактерий *Pseudomonas syringae* и ее апробации / Н.А. Феоктистова, А.К. Беккалиева, Д.А. Васильев, Е.В. Сульдина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2021. - № 2 - (54). - С. 148-156.

2. Bacteriophages of *Pseudomonas syringae*: features of isolation and study of main biological properties / D.A. Vasiliev, N.A. Feoktistova, E.V. Sulдина, A.V. Mastilenko, A.K. Bekkalieva // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. - 2021. - № 723. - С. 022084.

3. Изучение взаимодействия биологической системы фаг - хозяин: бактериофаг Ps.s-7 УлГАУ и *Pseudomonas syringae* P.s. -3 / Н.А. Феоктистова, Е.В. Сульдина, П.С. Майоров, И.М. Абдурахманов // Аграрные конференции. - 2021. - № 30 (6). - С. 21-26.

4. Изучение чувствительности бактерий рода *Bacillus* к различным концентрациям хлорида натрия / В.А. Макеев, М.А. Юдина, А.Х. Мустафин, А.И. Калдыркаев, Н.А. Феоктистова, С.В. Мерчина // Международная научно-практическая конференция, посвященная Всемирному году ветеринарии в ознаменование 250-летия профессии ветеринарного врача «Ветеринарная медицина XXI века: инновации, опыт, проблемы и пути их решения». - Ульяновск, 2011. - С. 185-187.

5. Организация научно-исследовательской работы обучающихся на кафедре микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, М.А. Лыдина //

Материалы научно-методической конференции профессорско-преподавательского состава академии «Инновационные технологии в высшем профессиональном образовании». – Ульяновск, 2015. - С. 190-197.

6. Выделение и изучение биологических свойств бактерий рода *Proteus* / Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2017. - № 2 (38). - С. 70-75.

7. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology – Springer, 2007. – Vol. 2. – 1136 p.

STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM BACTERIA

Zhuraev B.R.

Keywords: *Pectobacterium carotovorum*, properties, biochemical, cultural, tinctorial

Abstract: *This article presents the results of studies on the biological properties of Pectobacterium carotovorum bacteria. It was found that the tested strains showed typical properties based on data obtained from the Bergy Bacterial Determinant.*