

УДК 579.22

ИЗУЧЕНИЕ ПОТРЕБНОСТИ БАКТЕРИЙ *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS* SSP. *SEPEDONICUS* В ФАКТОРАХ РОСТА

П.С. Майоров, аспирант, pavelmayorovv@yandex.ru

А.С. Гранкина, магистрант, gr.nasya95@mail.ru

**Н.А. Феоктистова, кандидат биологических наук, доцент,
feokna@yandex.ru**

**Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор,
dav_ul@mail.ru**

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: *Clavibacter michiganensis*, *sepedonicus*, биологические свойства, культуры микроорганизмов, факторы роста, фитопатогены.

В статье представлены результаты изучения потребности *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* в факторах роста – аминокислотах: L-метионине, L-аспарагине, L-триптофане, L-тирозине. Согласно полученных данных установлена потребность *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* в L-метионине. Данная аминокислота может быть использована при конструировании питательных сред: накопления, транспортной.

Введение. Бактериальные факторы роста являются необходимым элементом в жизнедеятельности бактериальной клетки, которые она не способна самостоятельно синтезировать и получает в готовом виде. Бактериальные факторы роста представляют собой различные химические соединения; большинство из которых относятся к водорастворимым витаминам группы В и аминокислотам. Отсутствие в питательной среде бактериальных факторов роста приводит к бактериостатическому эффекту - бактериостазу, который может сопровождаться цитологическими изменениями. Бактериальные факторы роста не выступают для микробной клетки в качестве пластических или энергетических материалов, но используются бактериями в малом количестве в неизмененном виде [3,5].

Потребность бактерий в различных факторы роста является весьма разнообразной. У большинства сапрофитов данные факторы сведены к минимуму, в то время как патогенные микробы зачастую могут расти только на синтетических средах, в которых присутствуют опре-

деленные факторы роста в виде витаминов, аминокислот и других веществ [4,7].

Целью данной работы является выявление у бактерий подвида *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* потребности в факторах роста, в качестве которых был использован ряд аминокислот: L-метионин, L-аспарагин, L-триптофан, L-тирозин.

Материалы и методы исследований. Для исследования использовали 2 референс-штамма *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* Ас-1405 и Ас-2753, полученные из Всероссийской коллекции микроорганизмов.

Питательные среды и реактивы: питательный бульон (ООО «Био-Компас-С», РФ), питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-агар) ТУ 9398-020-78095326-2006 (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ); картофельный агар («HiMedia», Индия), питательная среда YPGA, картофельно-глюкозный агар («HiMedia», Индия), питательная среда NBY, L-метионин, L-аспарагин, L-триптофан, L-тирозин, NH_4NO_3 , NH_4Cl , K_2HPO_4 , Na_2SO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , глюкоза.

Техника приготовления питательных сред и методика посевов на плотные питательные среды, учет результатов экспериментов [1,2,6].

Результаты исследований. На первом этапе исследовали наличие роста бактерий *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* на минимальной глюкозо-солевой среде (МГСС). Для приготовления МГСС отдельно готовили:

- 1) солевой концентрат x4 (г/л): NH_4NO_3 - 4 г, NH_4Cl - 20 г, K_2HPO_4 - 12 г, Na_2SO_4 - 8 г, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5 г, KH_2PO_4 - 4 г; pH 7,2;
- 2) 20% водный раствор глюкозы;
- 3) 2% водный раствор агар-агара.

После приготовления и стерилизации отдельных компонентов готовили МГСС путем смешивания 200 мл % водного раствора агар-агара с 65 мл солевого концентрата и 4 и 3 мл 20% водного раствора глюкозы. Среду разливали по чашкам Петри и, после застывания, производили посев культур штрихом на поверхность МГСС. Посевы инкубировали при температуре 24 ± 2 °C в течение 5 суток. Отсутствие роста на МГСС свидетельствовало о потребности исследуемых бактерий в факторах роста.

На втором этапе исследовали потребность бактерий *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* в факторах роста. В качестве факторов роста использовали 4 аминокислоты - L-метионин, L-аспарагин, L-триптофан, L-тирозин. К МГСС добавляли отдельно по 1мл каждой аминокис-



Рисунок 1 – Положительный результат на МГСС с метионином

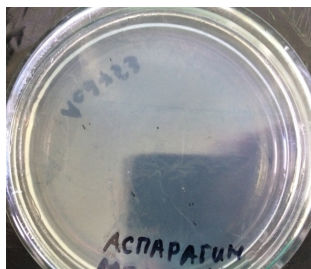


Рисунок 2 – Отрицательный результат на МГСС с аспарагином

лоты на 100 мл среды, при концентрации аминокислот 40мкг/мл. При этом факторы роста готовились отдельно, стерилизовались кипячением.

Приготовленные среды, содержащие аминокислоту, разливали по чашкам Петри, после застывания производили посев культур штрихом. Посевы инкубировали при температура 24 ± 2 °C в течение 5 суток. По истечению 5 суток проверяли посевы и подводили итог (рисунки 1 и 2).

На рисунках 1 и 2 представлены результаты проведенных исследований. Бактерии подвида *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* показали хороший рост на МГСС с метионином, что свидетельствует о необходимости использования данной аминокислоты в качестве фактора роста. Абсолютно отрицательный результат был получен на МГСС с аспарагином. На поверхности среды с данной аминокислотой по истечению срока инкубирования роста культур не наблюдалось. На МГСС с триптофаном и тирозином наблюдался незначительный рост культур.

Заключение. Основываясь на литературных данных и результатам ранее проведенных исследований [1-3] можно сделать вывод, что бактериям *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* необходимы факторы роста из-за установленной сложности культивирования. Так, согласно полученным данным, максимальный эффект наблюдали при применении аминокислоты L - метионина. На других МГСС с использованными в исследовании аминокислотами (L - тирозин и L - триптофан) рост культур был незначителен, при применении L – аспарагина отсутствовал.

В дальнейшем L - метионин может быть использован в рецептуре при конструировании накопительной и селективной сред для выделения бактерий подвида *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus*.

Научные исследования проводятся при финансовой поддержке государства в лице Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (программа «УМНИК»).

Библиографический список

1. Васильев, Д.А. Методы общей бактериологии. – Ульяновск, 2016. – 152 с.
2. Васильев, Д.А. Выделение и изучение биологических свойств бактерий рода *Proteus* / Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2017. - № 1. - С. 70 – 76.
3. Лысак, В. В. Физиология микроорганизмов : учеб.-метод. пособие / В. В. Лысак, Е. И. Игнатенко. – Минск : БГУ, 2016. – 80 с.
4. Майоров, П.С. Первичная идентификация микроорганизмов, выделенных из проб семенного картофеля / П.С. Майоров, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, К.В. Мартынова// Материалы Международной научной конференции «Молодежь и наука XXI века», 20-21 сентября 2017. Том 2. Ульяновск, УлГАУ, 2017. С. 92-96
5. Майоров, П.С. Идентификация возбудителя кольцевой гнили картофеля и определение его культуральных и тинкториальных свойств / П.С. Майоров, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев // Материалы XV международной научно-практической конференция: «Современные тенденции сельскохозяйственного производства в мировой экономике» – Кемерово, 2016. - С. 101-105.
6. Сульдина, Е.В. Выделение бактерий и бактериофагов *Yersinia enterocolitica* / Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2017. - № 3 (39). - С. 50-55.
7. *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* // Data sheets on quarantine pests. Prepared by CABI and EPPO for the EU under Contract 90/399003 2005.

Электронный ресурс: http://www.eppo.int/QUARANTINE/data_sheets/bacteria/CO_RBSE.

THE STUDY OF THE NEEDS OF THE BACTERIA *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS* SSP. *SEPEDONICUS* IN GROWTH FACTORS

Maïorov P.S., Grankina A.S., Feoktistova N.A., Vasiliev D.A.

Key words: *Clavibacter michiganensis*, *sepedonicus*, biological properties, cultures of microorganisms, growth factors, phytopathogens.

The article presents the results of studying the need for Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus in growth factors-amino acids: L-methionine, L-asparagine, L-tryptophan, L-tyrosine. According to the data obtained, the need for Clavibacter michiganensis ssp. was established. sepedonicus in L-methionine. This amino acid can be used in the design of nutrient media: accumulation, transport.