

УДК 579.695

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ КОНТАМИНАЦИИ ТОВАРНОГО КАРТОФЕЛЯ БАКТЕРИЯМИ *RALSTONIA SOLANACEARUM*

*Сулейманова М.И., Евина Д.А., студентки 1 и 3 курсов ФВМиБ,
Майоров П.С., магистрант 1 курса ФВМиБ,
Абдурахманов И.М., магистрант 2 курса ФАЗРиПП
Научный руководитель – Сульдина Е.В., ассистент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: *Ralstonia solanacearum*, картофель, схема выделение бактерий, бурая гниль, идентификация.

В статье описана схема выделения бактерий *Ralstonia solanacearum* и методы типирования с применением биохимических тестов. Установлено, что из 24 проб картофеля с визуальными признаками бурой гнили, выделено 13 штаммов бактерий, которые по биохимическим свойствам относятся к виду *Ralstonia solanacearum*.

Картофель является одной из наиболее популярных продовольственных культур мира и занимает четвертое место по значимости после риса, пшеницы и кукурузы. Но развитие картофелеводства связано не возможно без искоренения болезней данной сельскохозяйственной культуры. Одной из них является – «бактериальное увядание» или «бурая гниль», которая вызывается *Ralstonia solanacearum*.

Бактерии вида *Ralstonia solanacearum* первоначально были описаны Smith E.F.(1986) и известны ранее, как *Pseudomonas solanacearum*. Они поражают более 200 видов растений, принадлежащих к 53 различным ботаническим семействам, но наиболее чувствительны к патогену представители семейства пасленовых. Бактерии *Ralstonia solanacearum* широко распространены и приводят к бактериальному увяданию наиболее важных сельскохозяйственных культур в мире, таких как картофель, томаты, перец, баклажан и др. [1-2]. Потери урожая могут достигать 30 % в зависимости от устойчивости сортов картофеля, а при хранении превышают 40 %. Экономический ущерб в России от бурой гнили картофеля составляет 25,9 млрд. рублей.

Способность бактерий инфицировать большое количество хозяев затрудняет ее контроль. На сегодняшний день ни один метод контро-

Таблица 1 – Биохимические свойства бактерии *Ralstonia solanacearum*

Биологические свойства	Результат	Биологические свойства	Результат
1. Наличие гранул поли-β-гидроксibuтирата	+	21. Тесты с сахарами:	
2. Тест на оксидазу	+	1) Адонит	-
3. Тест на уреазу	+	2) Салицин	-
4. Гидролиз эскулина	-	3) Изонит	-
5. Гидролиз крахмала	-	4) Маннит	-
6. Рост при 40°C	-	5) Сорбит	-
7. Производство флуоресцирующих пигментов	-	6) L-Арабиноза	-
8. Активность каталазы	+	7) Манноза	+
9. Рост в 1% NaCl	-	8) Рамноза	-
10. Рост в 2% NaCl	-	9) Мелибиоза	-
11. Тест на активность аргинин дигидролазы	+	10) Инулин	-
12. Редуцирование нитрата	-	11) Трегалоза	+
13. Тест на липазу	+	12) Мальтоза	+
14. Определение подвижности	-	13) D-Ксилоза	-
15. Расжижение желатина	-	14) Целлобиоза	-
16. Тест на утилизацию натрия цитрата	+	15) Глюкоза	+
17. Образование индола	-	16) Лактоза	+
18. Тест на утилизацию фенилаланинацетата	-	17) Галактоза	-
19. Гидролиз твин-80	-	18) Фруктоза	+
20. Производство левана	-	22. Тест на окисление	
		-3% этанола	+
		- глицерина	+
		23. Выявление фенилаланиндезаниназы	-
		24. Реакция с яичным желтком	-

ля не является достаточно эффективным. Устойчивые сорта, полевая гигиена, севооборот и использование бактерицидов приносят лишь ограниченные успехи [3]. Разработка метода выявления, с также способов профилактики и лечения бурой гнили – это актуальная тематика исследований.

Цель настоящей работы - выделение и типирование бактерий вида *Ralstonia solanacearum* бактериологическим методом.

Методы изучения биологических свойств выделенных бактерий классические [4-8]. Материалом исследований был клубни картофеля,

которые имели признаки бурой гнили при визуальном осмотре – 24 пробы.

Результаты исследований. Клубни картофеля тщательно промыли водопроводной водой, а затем последовательно стерилизовали сначала 1% раствором гипохлорита натрия, потом 70 % этанолом и обжигали над пламенем горелки. Клубни разрезали на небольшие кусочки, захватывая сосудистое кольцо, и помещали их в пробирки с питательной средой следующего состава: гидролизат казеина – 1 г, пептон – 10 г, глюкоза – 5 г, вода – 1 литр (среда готовится при 112 °С в течение 20 минут). Пробирки выдерживали в термостате 48 часов, после чего из них брали суспензию и высевали на среду Кельмана с ТТХ и на картофельный агар с генциан-виолетом.

Среди выросших 16 колоний отбирали наиболее характерные колонии по внешнему виду: маслянистые, розово-красные с небольшими голубоватыми краями и инкубировали на отдельных чашках Петри со средой Кельмана в течение 24 часов. Выделенные чистые культуры засеивали на среды: скошенный мясо-пептонный агар, картофельный агар с генцианвиолетом, сахарозно-пептонную среду, среду с L-тирозином [5].

Штаммы чистых культур изучались по свойствам, отраженным в таблице 1 [7-8, 9-10].

Анализ биологических свойств выделенных бактерий показал принадлежность 13 штаммов к виду *Ralstonia solanacearum*. Установлено, что для типирования вышеназванных бактерий используется значительное количество расходных материалов и методики чрезвычайно трудоемки [11-12]. Это свидетельствует о необходимости модификации бактериологической схемы выделения *Ralstonia solanacearum*, например введением этапа фаготипирования.

Библиографический список

1. Alka, Grover. Chakrabarti-Rapid Method for Isolation of PCR Amplifiable Genomic DNA of *Ralstonia solanacearum* Infested in Potato Tubers / Grover Alka, K. Swarup // *Advances in Microbiolog.* – 2012. - № 2. - P.441-446.
2. Hayward, A. C. Biology and Epidemiology of Bacterial Wilt Caused by *Pseudomonas solanacearum* / A.C. Hayward // *Annual Review of Phytopathology.* – 1991. - Vol.29. – P. 65-87.
3. Kelman, A. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium / A. Kelman // *Phytopathol.* – 1954. - № 44. – P. 693–695.

4. Smith, E.F. A bacterial disease of the tomato, eggplant and Irish potato (*Bacillus solanacearum* nov. sp.) / E.F Smith // Div. Veg. Phys. and Path. – 2014. - Bul. 12. U. S. Dept. Agr. – P. 1896.
5. Васильев, Д.А. Методы общей бактериологии / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин. - Ульяновск, 2006. – 238с.
6. Желдакова, Р.А. Фитопатогенные микроорганизмы. Учебно-метод. пособ. / Р.А. Желдакова, В.Е. Мямин. – Минск: БГУ, 2006. - 116с.
7. Каримова, Е.В. Микроорганизмы, вызывающие карантинные для Российской Федерации бактериальные болезни растений / Е.В. Каримова, Ю.А. Шнейдер, В.Г. Заец [и др.] // Вестник Российского университета дружбы народов. Агротомия и животноводство. – 2013. - № 2. – С. 31-33.
8. Лазарев, А.М. Методы изучения бактериозов картофеля / А.М. Лазарев. - С.-Пб., 2001. - 27с/
9. Шокина, К.В. Бактерии *Ralstonia solanacearum* - возбудитель бурой гнили картофеля / К.В. Шокина, П.С. Майоров, Н.А. Феоктистова, К.Н. Саппаров, Д.А. Васильев // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: материалы VIII международной научно-практической конференции. - 2017. - С. 277-283.
10. Шокина, К.В. Схема выделения и типирования *Ralstonia solanacearum* / К.В. Шокина, П.С. Майоров, Н.А. Феоктистова, К.Н. Саппаров, Д.А. Васильев // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: материалы VIII международной научно-практической конференции. - 2017. - С. 284-287.
11. Шокина, К.В. Исследование образцов торфосорбентов на наличие бактерий рода *Bacillus* и *Pseudomonas* / К.В. Шокина, П.С. Майоров, Н.А. Феоктистова, А.К. Морозова, М.А. Лыдина, С.Н. Золотухин, Д.Н. Хлынов // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы VII Международной научно-практической конференции. - 2016. - С. 284-289.
12. Майоров, П.С. Исследование образцов торфосорбентов на наличие бактерий рода *Actinomycetales* и определение общей численности сапрофитных микроорганизмов / П.С. Майоров, К.В. Шокина, В.А. Милинская, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, В.Г. Захарова, Е.Г. Логинова, А.А. Щербина, Ю.А. Райчинец // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: материалы VII Международной научно-практической конференции. - 2016. - С. 247-252.
13. Кудряшова, К.В. Изучение видового разнообразия бактерий рода *Bacillus*, контаминирующих корне- и клубнеплоды / К.В. Кудряшова, Н.А. Феоктистова, М.А. Лыдина, Д.А. Васильев, Б.И. Шморгун // Аграрная наука и образо-

вание на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: материалы VI Международной научно-практической конференции. - 2015. - С. 95-98.

THE STUDY OF THE POTENTIAL CONTAMINATION OF MARKETABLE POTATOES BY THE BACTERIA RALSTONIA SOLANACEARUM

Suleymanova M. I., Evina D. A., Maiorov P. S., Abdurakhmanov I. M.

Key words: *Ralstonia solanacearum, potatoes, schema, selection of bacteria, brown rot, identification.*

The article describes a scheme for the isolation of bacteria Ralstonia solanacearum and methods of typing with the use of biochemical tests. It was found that out of 24 samples of potatoes with visual signs of brown rot, 13 strains of bacteria were isolated, which by biochemical properties belong to the form of Ralstonia solanacearum.