

# ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ КАК ВОЗБУДИТЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЙ КАРТОФЕЛЯ НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ

## Комар Е.И., Шавель М.И., Песнякевич А.Г.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь, e-mail: [pesnyakevich@bsu.by](mailto:pesnyakevich@bsu.by)

В последние годы в связи с изменением климата, возделыванием новых сортов, увеличением объема импорта изменяется видовой состав возбудителей заболеваний картофеля в различных регионах. С целью выявления подобных изменений на территории Республики Беларусь проведено выделение чистых культур бактериальных возбудителей мягкой, буровой и кольцевой гнили картофеля в период 2004 – 2012 гг.

Бактерии штаммов, составивших группы 1 и 2, являются грамотрицательными мелкими подвижными палочками, что позволяет в сочетании приведенными в табл. 1 признаками отнести их к роду *Pectobacterium*.

Таблица 1

Группа (количество штаммов)	O/F-тест	Наличие ферментов											ГЧ
		Каталаза	Оксидаза	НР	АД	Уреаза	Лецитиназа	Липаза	Амилаза	Пектатиазы	Целлюлазы	Протеазы	
1 (7)	F	+	-	+	-	-	+	+	+	+	++	+	+
2 (23)	F	+	-	+	-	-	+	+ (16), - (7)	-	++	+	+	+
<i>Pa</i> SCRI 1043	F	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+
<i>Pc</i> j289	F	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+

Примечание: «+» – положительная реакция; «-» – отрицательная реакция; O/F-тест – окислительное или ферментативное образование кислоты из глюкозы; F – ферментативное; АД – аргининдегидролаза; НР – нитратредуктаза; ГЧ – способность вызывать реакцию гиперчувствительности у *Vicia faba*

Кроме того, штаммы группы 1 чувствительны к эритромицину, не растут на поверхности агаризованной среды, содержащей 5 % NaCl, хорошо размножаются при температуре 42 °C.



Рис. 1. Характер мацерации тканей клубней картофеля на 4-ый день после инокуляции

На основании морфологических и физиологических характеристик представители второй группы были дифференцированы как *Pectobacterium carotovorum* и *Pectobacterium atrosepticum*.

При заражении клубней картофеля чистой культурой бактерий вида *Pectobacterium carotovorum* первоначально происходит размягчение тканей в местах инокуляции, затем бактерии распространяются по ткани клубня, что сопровождается загниванием с образованием полости, заполненной слизистым неприятно пахнущим экссудатом. Мацерация проявляется в первые сутки, мацерированная ткань молочно-белого цвета со временем появляются участки темного цвета (рис. 3). При заражении стебля супензией клеток происходит распространение бактерий по стеблю с последующим размягчением и загниванием тканей стебля. Пораженные участки стебля коричневого цвета (рис. 2). Бактерии данного вида хорошо растут при температуре 38 °C и содержании 7 % хлорида натрия в среде, не чувствительны к эритромицину.



Рис. 2. Характер поражения стеблей картофеля на 3-ий день после заражения. Рис. 3. Характер мацерации тканей клубней картофеля на 4-ый день после заражения



Рис. 5. Характер поражения стеблей картофеля на 3-ий день после заражения

Рис. 6. Характер мацерации тканей клубней картофеля на 4-ый день после заражения

Заболевания клубней картофеля, вызванные выделенными нами бактериями вида *Pectobacterium atrosepticum*, протекает медленно с образованием мягкой гнили темно-коричневого цвета, что можно объяснить образованием меланинов (рис. 6). Со временем мацерированная ткань подсыхает. *Pectobacterium atrosepticum* вызывает «черную ножку» стебля – пораженные участки стебля быстро чернеют и высыхают (рис. 5). Штаммы группы 1 не чувствительны к эритромицину, могут расти при содержании в среде 6 % хлорида натрия, хорошо размножаются при температуре 32 °C, значительно хуже растут при температуре более высоких температур.

Таблица 2

Группа (количество штаммов)	O/F-тест	ФП	Образование левана	Наличие ферментов								
				Каталаза	Оксидаза	НР	АД	Уреаза	Лецитиназа	Липаза	Пектатиазы	
A (1)	O	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-
B (2)	O	+	+	+	+	-	+	+	-	++	-	-
C (6)	O	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-
D (10)	O	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-
E (1)	O	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-
УКМ В-1109, УКМ В-1110	O	-	-	+	+	+	-	-	++	-	-	-

Примечание: «+» – положительная реакция; «-» – отрицательная реакция; «+/-» – результат нечеткий; O/F-тест – окислительное или ферментативное образование кислоты из глюкозы; О – окислительное; АД – аргининдегидролаза; НР – нитратредуктаза; ФП – способность образовывать флуоресцирующие пигменты на среде с выраженным дефицитом ионов железа.

В результате амплификации гена 16S rPHK с помощью пары праймеров 8f и 1492R и при использовании в качестве матрицы ДНК исследуемых нами и коллекционных штаммов были получены ПЦР-продукты длиной около 1500 п.н. Впоследствии эти продукты были подвергнуты обработке рестриктазами Apal, Aval, HaeIII (Bsu RI), Mspl, RsaI, SacI.



Рис. 7. Результаты RFLP-анализа продуктов амплификации гена 16S rPHK с помощью фермента HaeIII, Mspl, RsaI.

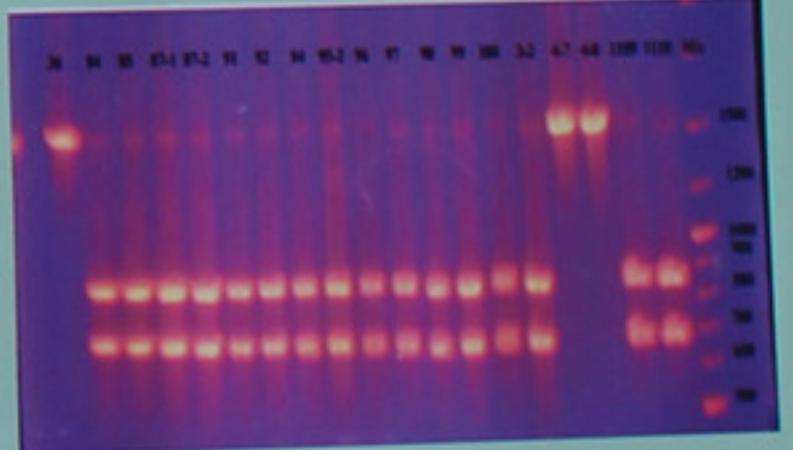


Рис. 8. Результаты RFLP-анализа продуктов амплификации гена 16S rPHK с помощью фермента SacI.

Следует отметить, что фрагменты рестрикции гена 16S rPHK *R. solanacearum* УКМ В-1109 УКМ В-1110 совпадают с рестрикционными профилями исследуемых нами штаммов, которые имеют сходные между собой профили. Следовательно, можно сделать вывод, что они, возможно, относятся к одной группе микроорганизмов. Аналогичные результаты наблюдались и при обработке остальными рестриктазами. Лишь при обработке ферментом SacI для трех штаммов наблюдалась отличия.

### Выходы:

- Бактерии рода *Pectobacterium*, традиционно считающиеся причиной гнилостного повреждения картофеля на территории Беларуси, остаются наиболее распространенными патогенами и в настоящее время.
- Среди грамотрицательных бактерий, вызывающих в Беларуси поражение клубней картофеля с симптомами мягкой, буровой и кольцевой гнили с использованием морфологических физиологических тестов идентифицированы группа флуоресцирующих псевдомоад.
- Семь штаммов предварительно отнесены к виду *Dyckaea dadantii* (ранее *Erwinia chrysanthemi*), который не встречался на территории Беларуси в 1970-1990 годах.