

УДК 632.911.2:632.913

## К ВОПРОСУ О БИОЛОГИЧЕСКОМ РАЗНООБРАЗИИ ПАТОВАРОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ СОСУДИСТОГО БАКТЕРИОЗА КРЕСТОЦВЕТНЫХ В УСЛОВИЯХ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

М.А. Кузнецов<sup>1</sup>, А.А. Щербаков<sup>1</sup>, О.С. Ларионова<sup>1</sup>, Е.А. Горельникова<sup>2</sup>, Н.С. Червякова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО СГАУ им. Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

<sup>2</sup> ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

### Введение

Сосудистый бактериоз крестоцветных – опасное заболевание, вызываемое бактериями вида *Xanthomonas campestris*. Инфекция характеризуется высокой поражающей способностью и широким биоразнообразием как поражаемых растений, так и вариантов возбудителя. Последнее связано, в том числе, с обширностью площадей сельскохозяйственных угодий Российской Федерации, характеризующихся широким разнообразием почвенных и климатических условий. В свою очередь, такая изменчивость способствует не только нетипичному проявлению заражения, но и разной степени патогенности и специфичности по отношению к поражаемым растительным объектам [1].

В связи с этим, актуальным становится вопрос об идентификации и дифференциации патогенных штаммов *X. campestris*. Особый интерес это представляет в условиях Саратовской области, территория которой характеризуется присутствием практически всех почвенно-климатических зон [2]. Это послужило обоснованием при выборе метода дифференциации – биохимического тестирования – так как разные почвенные условия требуют от бактерий приспособления к ним и, как следствия, изменения своих биохимических характеристик.

**Цель работы** – дифференциация культур *X. campestris*, полученных из разных районов Саратовской области

В соответствии с целью, были поставлены задачи по: получению и идентификации «диких» образцов возбудителя сосудистого бактериоза крестоцветных, уточнению их биохимических характеристик и их сравнению с музейным штаммом возбудителя и наиболее распространёнными в природе микроорганизмами.

### Материалы и методы

В качестве рабочего материала использовались культуры «диких» штаммов *X. campestris* (рв. *campestris*), полученные из поражённых сосудистым бактериозом крестоцветных растений капусты белокочанной, выращенных в Саратовском, Энгельском и Вольском районах Саратовской области. Для каждого из районов отбиралось шесть образцов.

Выявление поражения растений. сосудистым бактериозом проводилось методом до-иммуноанализа (ДИА) с применением специфичной гипериммунной кроличьей сыворотки [3].

Культуры возбудителя получались высевом растительных экстрактов на МПА по методу Дригальского с последующим пересевом целевых колоний на среду Эйкмана.

Для контроля результатов ДИА использовалась культура штамма *X. campestris* В 610 (NCPPB 45), полученного из коллекции ризосферных бактерий ИБФРМ РАН.

В биохимическом тестировании использовались образцы культур *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-9027 (*P. aeruginosa*) (получен из ВКПМ ФГУП ГосНИИГенетика), *Yersinia pseudotuberculosis* III (*Y. pseudotuberculosis*), *Yersinia enterocolitica* 66–82 (O:3) (*Y. enterocolitica*), *Escherichia coli* 1027 (*E. coli*) (получены из ГКПМ ФГУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора), *X. campestris* В 610 (NCPPB 45) (получен из коллекции ризосферных бактерий ИБФРМ РАН). Исследование проводилось с применением тест-системы API-10S (Bio-Mérieux, Франция), в трёхкратной повторности [4].

Процедуру анализа выполняли в соответствии с изложенной в инструкции стандартной методикой. Результаты анализа учитывали визуально, непосредственно и после добавления соответствующих реактивов, на входящих в комплект тест-системы стандартизированных бланках. Для интерпретации результатов каждому из исследуемых штаммов по результатам реакции присваивали соответствующий числовой профиль, который затем соотносили с базой данных системы.

Результаты и обсуждение

Результаты ДИА для образцов «диких» штаммов представлены в таблице 1. Из её данных видно, что популяция микроорганизмов, полученных из разных районов, не однородна по своему составу и взаимодействует со специфичной сывороткой по-разному. Это позволяет говорить о развитой приспособительной способности возбудителя и является достаточным основанием для уточнения их биохимических характеристик.

Таблица 1 – Результаты проведения дот-иммуноанализа с образцами чистых культур *X. campestris*, взятых в различных районах Саратовской области

Образец	Разведение образца		
	1:1	1:10	1:100
Вольский р-н			
1	+	+	+
2	+	+	+
3	+	-	+
4	+	+	-
5	-	-	-
6	+	+	+
Саратовский р-н			
1	+	+	+
2	+	+	-
3	-	-	-
4	+	+	+
5	+	+	-
6	+	+	-
Энгельсский р-н			
1	-	-	-
2	+	+	+
3	+	+	+
4	+	-	-
5	+	-	+
6	+	-	-

обитания. Характерным является отсутствие у «диких» штаммов возбудителя способности к продукции сероводорода – что, вероятно, связано с особенностями условий хранения музейного штамма.

Таблица 2 – Сравнение числовых профилей системы API 10S, характерных для диких штаммов *X. campestris* и наиболее распространённых в природе микроорганизмов

Вид штамма	Наименование	Числовой профиль	Совпадение профилей
<i>coli</i>	M-616	7305	<i>coli</i> 1
<i>coli</i>	1027	7345	-
<i>enterocolitica ser. 0:3</i>	66-82	0210	-
<i>pseudotuberculosis</i>	III	7420	-
<i>enterica subsp. Entericaser. Abony</i>	M-767	7755	-
<i>Proteus sp</i>	-	6775	-
<i>campestris</i>	B-610	7010	-
<i>campestris</i>	<i>pv. campestris</i> 1	7004	<i>Echerichia vulneris, Pantoea sp, Echerichia coli</i> 2
<i>campestris</i>	<i>pv. campestris</i> 2	7044	-
<i>campestris</i>	<i>pv. campestris</i> 3	7000	-
<i>campestris</i>	<i>pv. campestris</i> 4	7000	-

Результаты биохимического тестирования и сравнения штаммов *X. campestris* представлены в таблице 2. Из неё видно, что микроорганизмы вида *X. campestris* значительно отличаются по своим характеристикам не только от наиболее часто встречающихся в природе микроорганизмов, но и между собой – о чём свидетельствуют их различные числовые профили. При этом числовой профиль одного из штаммов совпадает с таковыми для других видов микроорганизмов – не участвовавших в исследовании, но присутствующих в базе данных тест-системы API-10S

Более полно различия между «дикими» штаммами *X. campestris* и их отличия от музейного штамма представлены в таблице 3.

Из таблицы видно, что штаммы возбудителя, полученные из разных регионов Саратовской области, в целом совпадая по биохимическим признакам с музейным, имеют отдельные отличия, обусловленные различиями среды

Таблица 3 – Числовые профили системы API 10S, характерные для «диких» штаммов  
*X. Campestris pv. campestris*

Штамм	Источник получения	Числовой профиль	Отличия от музейного штамма
<i>campestris</i> pv. <i>campestris</i> 1	Саратовская обл., Вольский р-н	7004	Восстановление нитратов, отсутствие продукции H <sub>2</sub> S
<i>campestris</i> pv. <i>campestris</i> 2	Саратовская обл., г. Энгельс	7044	Триптофандеаминаза, восстановление нитратов, отсутствие продукции H <sub>2</sub> S
<i>campestris</i> pv. <i>campestris</i> 3,4	Саратовская обл., г. Саратов, Кировский р-н	7000	Отсутствие продукции H <sub>2</sub> S

### Заключение

Являющийся опаснейшим для культурной флоры заболеванием, сосудистый бактериоз крестоцветных распространён повсеместно. Это способствует широкой изменчивости его возбудителя и, как следствие, различиям в патогенности и специфичности – что вызывает интерес к дифференциации и систематизации его патоваров.

В ходе исследования было установлено, что на территории Саратовской области присутствует как минимум три «диких» штамма возбудителя сосудистого бактериоза крестоцветных. Показано, что эти патовары отличаются по основным биохимическим показателям как друг от друга, так и от музейного образца. При этом, наблюдается подобие одного из «диких» штаммов сразу нескольким видам неблизкородственной им естественной микрофлоры. Это позволяет утверждать о широких пределах видовой изменчивости возбудителя – и, как следствие, разнообразии его вариантов. Однако, для возможности практического применения дифференциация и систематизация патоваров должна проводиться более широким набором методов и по большему количеству критериев.

### Литература

1. Ignatov, A. Genetic diversity in populations of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in cruciferous weeds in central Coastal California / A. Ignatov, A. Sechler, E.L. Schuenzel [и др.] // *Phytopathology*. – 2007. – V. 97. – P.803–812.2. Казулин
2. Проект концепции развития агропромышленного комплекса Саратовской области до 2020 года [Электронный ресурс] // Министерство сельского хозяйства Саратовской области. Официальный портал. – Режим доступа: <https://www.minagro.saratov.gov.ru/Razvitie/> (дата обращения 14.06.2023).
3. Пат. RU2736806, G01N33/53. Способ диагностики сосудистого бактериоза крестоцветных методом дот-иммуноанализа / М.А. Кузнецов, А.А. Щербаков, В.М. Скорляков [и др.]. – № 2019108525; заявл. 25.03.2019; опубл. 20.11.2020, Бюл. № 32.
4. Червякова, Н.С. Оптимизация подходов к установлению аутентичности консервации коллекционных штаммов патогенных микроорганизмов / Дисс... канд. биол. наук. 06.01.11 / Червякова Надежда Сергеевна. – Саратов. – 2017. – 177 с.