

УДК 632.35:634.10 (476.6)

## **ВЫДЕЛЕНИЕ В ЧИСТУЮ КУЛЬТУРУ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ИЗОЛЯТОВ AGROBACTERIUM TUMEFACIENS**

**Кизелевич Н. Ю., Брукиш Д. А.**

УО «Гродненский государственный аграрный университет»  
г. Гродно, Республика Беларусь

Корневой рак, или зобоватость корней, является одной из самых распространенных болезней плодовых пород в питомниках. Нередки случаи, когда пораженность саженцев корневым раком достигает 50 и даже 80% [2]. В настоящее время наблюдается расширение ареала заболевания. Наибольший ущерб корневой рак наносит в питомниках и при выращивании плодовых деревьев в молодом саду. На 20-45% снижается выход посадочного материала. Больные растения слабо растут и неустойчивы морозу [1, 4, 6]. По этой причине перед нами стояла задача в выделении и идентификации возбудителя бактериального корневого рака плодовых семечковых культур.

Исследования проводились в лаборатории кафедры фитопатологии и химической защиты растений УО «Гродненский государственный аграрный университет» по общепринятым методикам.

Для характеристики колоний пользовались следующими параметрами: величина, форма, прозрачность, цвет, поверхность, профиль.

Для выделения бактерий в чистую культуру часть изолированной колонии захватывали петлей, стараясь не задеть окружающих колоний, и штриховыми движениями переносили в пробирки на скошенную поверхность агара [3, 5].

Через 1-2 дня изучали характер роста культуры на косом агаре. Окончательное заключение о чистоте культуры принимали после просмотра мазка. Для его приготовления на чистое обезжиренное предметное стекло наносили маленькую каплю стерильной воды, в которую петлей вносилось немного исследуемого материала, равномерно его перемешивали и растирали тонким слоем. Фиксацию мазка проводили над пламенем горелки. Затем проводили окрашивание по Граму. Данное окрашивание имеет диагностическое значение, при котором бактерии делятся на две группы: грамположительные и грамотрицательные. При окраске по Граму грамположительные бактерии приобретают темно-фиолетовый цвет, а грамотрицательные – красный.

В результате проведенных нами исследований по выделению в чистую культуру *Agrobacterium tumefaciens*, мы получили в основной массе выпуклые, круглые, гладкие, непигментированные или слабо-бежевые колонии, размером от 2,0 до 4,0 мм (таблица).

Таблица – Характеристика изолятов *Agrobacterium tumefaciens* выделенных в чистую культуру

| № колонии            | П6                | Г26               | П16                | П2а               | П36               | П7с               |
|----------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Величина колонии, мм | 2,0               | 2,7               | 2,4                | 3,1               | 4,0               | 3,2               |
| Форма колонии        | Круглая           | Круглая           | Круглая            | Круглая           | Круглая           | Круглая           |
| Прозрачность колонии | Полупрозрачная    | Полупрозрачная    | Полупрозрачная     | Полупрозрачная    | Полупрозрачная    | Непрозрачная      |
| Цвет колонии         | Слабо-бежевая     | Слабо-бежевая     | Непигментированная | Слабо-бежевая     | Слабо-бежевая     | Желтая            |
| Профиль колонии      | Выпуклая          | Выпуклая          | Выпуклая           | Выпуклая          | Выпуклая          | Выпуклая          |
| Консистенция колонии | Вязкая            | Вязкая            | Вязкая             | Вязкая            | Вязкая            | Восковидная       |
| Окраска по Граму     | Грам <sup>-</sup> | Грам <sup>-</sup> | Грам <sup>-</sup>  | Грам <sup>-</sup> | Грам <sup>-</sup> | Грам <sup>+</sup> |

Анализируя данные таблицы, мы видим, что при первичной идентификации по методу Грама, выделенных в чистую культуру бактерий, мазок из колонии под номером П 7с, в отличие от других мазков, оказался грамположительным. Это стало основанием для выбраковки данной колонии из списка изучаемых. Оставшиеся изоляты будут использованы для дальнейшей идентификации фитопатогена с помощью других методов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бунцевич, Л. Л. Оздоровление маточника клоновых подвоев яблони от бактериального рака / Л. Л. Бунцевич, Р. С. Захарченко, М. А. Костюк, Е. Н. Палецкая // Плодоводство и виноградарство Юга России. [Электронный ресурс]. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2012.

- № 14 (2). – Шифр Информрегистра: 0421200126/0022. – Режим доступа: <http://journal.kubansad.ru/pdf/12/02/09.pdf>
2. Дементьева, М. И. Болезни плодовых культур. М., Сельхозиздат, 1962. – 240 с.
  3. Кирай, З. Методы фитопатологии / З. Кирай, З. Клемент, Ф. Шоймоши, Й. Вереш. – М.: Колос, 1974. – 344 с.
  4. Ланак, Я. Атлас болезней и вредителей плодовых, ягодных, овощных культур и винограда / Я. Ланак, К. Шимко, Г. Ванек. – Братислава: Природа, 1972. – 58 с.]
  5. Методы изучения бактериальных болезней растений : методические указания для научно-исследовательской работы студентов. – Москва: Издательство МСХА, 1989. – 26 с.
  6. Стороженко, Е. М. Болезни плодовых культур и винограда / Е. М. Стороженко. – Краснодарское книжное издательство, 1970. – 84 с.