

Copyright © 2018 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
Central European Journal of Botany
Has been issued since 2015.
E-ISSN 2413-757X
2018, 4(1): 3-6

DOI: 10.13187/cejb.2018.1.3
www.ejournal34.com



Articles and Statements

A Study of the Physiological Properties of Some Phytopathogenic BacteriaMagda D. Davitashvili ^{a, *}, Lamara D. Zuroshvili ^a, Gela S. Azikuri ^a^a Iakob Gogebashvili Telavi State University, Georgia**Abstract**

The physiological features of nutrition of some phytopathogenic bacteria were studied. Attention was focused on the selection of nutrient media, for virulence is in correlation with the nutrition of bacteria. Natural and synthetic media were selected to obtain a large quantity of biomass, accelerate growth, activate some enzymic systems and pigmentation, as well as to ensure long-term preservation of cultures in the condition of intensive vital activity. In connection with the dynamics of the development of the bacterial infection in plants the duration of phase development in different media was studied.

Keywords: phytopathogenic bacteria, nutrient media, virulence, enzymic system, strains, inoculums, stationary phase, biomass.

1. Введение

Связь между питанием фитопатогенных бактерий и вирулентностью отмечают многие авторы. Эти бактерии могут использовать, с одной стороны, химические соединения, входящие в состав растения и, с другой стороны, промежуточные и конечные продукты метаболизма растения. При изучении проникновения микробной инфекции и заболеваний в растение важную роль играет установление особенности питания фитопатогенных бактерий. С помощью этого возможно выявить «агрессивные» механизмы, способствующие заболеванию растения и последующему развитию, такие как ферменты, токсины, продукты метаболизма (Дьяков, 2012 Шкаликов и др., 2005).

Изучение питательных особенностей бактериальных заболеваний и закономерностей роста и развития культур является важным вопросом при определении взаимоотношений между растением-хозяином и паразитом-бактерией.

Целью нашей работы является изучение физиологических свойств некоторых фитопатогенных бактерий, распространённых в Грузии, и установление их питательных особенностей. Т.к. в процессе развития микробной инфекции учувствуют разные химические соединения и продукты метаболизма, был интересен выбор питательных сред растения на основании главных химических соединений и продуктов метаболизма, которые, с одной стороны ставят барьер, а, с другой стороны предоставляют пищу для

* Corresponding author

E-mail addresses: magdadav@gmail.com (M.D. Davitashvili), zuroshvilila@gmail.com (L.D. Zuroshvili), gelazi@yahoo.com (G.S. Azikuri)

фитопатогенных бактерий. С помощью использования питательных сред разного содержания можно изучить закономерность роста и развития фитопатогенных бактерий, выявить их потенциальные возможности с точки зрения питания, темпа и интенсивности развития, появления ферментов и протекания других процессов.

2. Материалы и методы

Объектом для исследования были выбраны местные штаммы фитопатогенных бактерий, полученных из микробиологической лаборатории института защиты растений имени Л. Канчавели. Использование указанных бактерий для опыта было обусловлено тем, что они часто встречаются в условиях умеренного климата Грузии и вызывают заболевания цитрусов, чая, фруктов и ягод, овощей и других культур.

В процессе работ были использованы следующие пищевые среды и методы: мясопептонный агар (МПА), мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный желатин (МПЖ), аграризированные среды, изготовленные из разных растений (картофель, морковь, капуста, помидоры), водный агар, коническая среда, среда Ушинского, фермерская среда, среда Омелянского, синтетическая нитратная среда, среда Георгия и Поэ, молочный агар, агаризированное пивное сусло, крахмальная среда. МПА, МПБ, МПЖ, молочный агар использовался, как источник энергии, С и N для изучения интенсивности роста и динамики культур, получения избыточной биомассы, активизации протеолизных ферментов, изучения пигментации, растительный агар, среда Омелянского, крахмальная среда, пивной агар для изучения ферментации углевода и для активизации соответствующих ферментов, для изучения роста и развития, динамики и интенсивности культур.

Коническую среду, среду Ушинского, среду Георгия и Поэ, синтетическую нитратную среду для установления закономерности в основном использовали источником питания аминокислот, органических кислот и разных неорганических солей.

pH пищевой среды определяли, используя индикаторную бумагу, рассеивая количество живых микробов на прочной пищевой среде, подсчитывая общее количество микробов в камере Горяева, биомассу пробных бактерий – нефелометрированием, количество инокулата 2 % пищевой среды, титр – 5×10^8 клеток/мл, возраст – 5 дней, температура культивации – 20°C (Методы определения болезней..., 1987; Sinclair, Dhingra, 1995; Ковальчук и др., 2010; Тихонов и др., 2005).

3. Результаты и их обсуждение

Показатели интенсивности роста пробных бактерий в разной пищевой среде согласно оптической плотности указаны в таблице. Показатель оптической плотности во всех вариантах взят в стационарной фазе развития культуры, т.к. мы интересовались максимальным количеством биомассы.

Таблица 1. Биомасса некоторых фитопатогенных бактерий в разных пищевых средах, согласно оптической плотности

№	Использованная пища	<i>Pseudomonas tumefaciens</i>	<i>Pectobacterium phytophthorum</i>	<i>Pectobacterium aroideae</i>	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	<i>Xanthomonas vesicatoria</i>	<i>Xanthomonas campestris</i>
1	МПА	0,9	1,3	1,3	1,2	1,0	0,7
2	МПБ	0,7	1,0	1,2	1,2	1,0	0,8
3	Водный агар	0,1	0,3	0,3	0,3	0,2	0,1
4	Коническая среда	0,4	0,7	0,5	0,7	0,5	0,3
5	Среда Ушинского	0,8	1,2	0,9	0,9	0,7	0,6
6	Фермерская среда	0,4	0,5	0,5	0,5	0,4	0,3
7	Среда Омелянского	0,35	0,9	1,0	1,0	0,8	0,8

8	Синтетическая нитратная среда	0,4	0,6	0,6	0,6	0,4	0,3
9	Среда Георгия и Поэ	0,6	0,7	0,8	0,8	0,6	0,5
10	Молочный агар	5,0	5,5	5,7	5,8	0	4,8
11	Аграризованное пивное сусло	4,2	4,4	4,5	4,4	4,0	3,9
12	Картофельный агар	1,9	2,3	2,2	2,4	1,8	1,7
13	Капустный агар	0,7	1,0	0,9	0,9	1,1	1,2
14	Морковный агар	0,7	0,9	0,8	0,8	1,0	1,0
15	Томатный агар	0,7	0,8	0,9	0,9	0,8	0,7

Из [таблицы 1](#) следует, что самой лучшей средой для роста и развития бактерий является молочный агар. В случае его использования количество биомассы в 2-3 раза больше показателей полученных в других более распространенных пищевых средах (МПА, картофельный агар). Молочный агар был впервые нами использован для культивирования фитопатогенных бактерий. Это лучшая среда, как для получения большого количества бактериальной биомассы, так и для длительного хранения в жизнеспособном состоянии. Кроме этого, в указанной среде прекрасно проявляются пигменты, что очень важно в изучении роли пигментов при токсическом действии бактерий. При культивации бактерий на молочном агаре (даже 1 пассаж) значительно активировались протеолизные ферменты, а в результате выросших в таких условиях культур растёт качество и скорость сжижения МПЖ. Значительное количество биомассы было получено в результате использования пивного агара в качестве пищи, но по интенсивности роста оно меньше, чем на молочном агаре. Растительный агар также не даёт интенсивного развития культур, как и синтетические сферы. Рост в случае разных культур неравномерный. Например, на сфере Ушинского рост *Pectobacterium phytophthorum* был более сильный. Глюкоза подавляла развитие *Pseudomonas tumefaciens*, а *Xanthomonas campestris* почти во всех случаях отставала интенсивностью роста от других культур.

При изучении бактериальных заболеваний большое значение имеет анализ динамики роста и развития культур, так как этапы развития инфекционного процесса связаны с закономерностью роста и развития ([Тихонов и др., 2005](#)). В связи с этим были изучены фазы роста и развития пробных бактериальных культур в разных условиях культивирования. Изучение производили на богатых пищевых сферах (МПА, МПБ, картофельный агар, пивной агар, молочный агар). Самым долговременным считался лаг-период при использовании МПА и картофельного агара, его продолжительность составляет 4 дня. А продолжительность лаг-фазы на молочном агаре и пивном агаре уменьшена не превышает 16-18 часов, но аналогичные условия развития растительных бактерий даёт твёрдая пища, поэтому очень важны результаты, полученные в этих условиях.

Важным фактором является также продолжительность и интенсивность стационарной фазы. В случае указанных культур на молочном агаре стационарная фаза продолжается до 1 месяца и бактериальный рост долгосрочно остаётся в жизнеспособном состоянии. Также долго продолжается стационарная фаза при культивировании на пивном агаре. На МПА и картофельном агаре стационарная фаза достигает 8-12 дней. При использовании МПБ рост бактериальных культур уменьшается, так же уменьшается и период их жизнедеятельности.

Для культивирования фитопатогенных бактерий использовали до 20-ти наименований универсальных и синтетических питательных сред. Особенно интенсивный рост был получен на молочном агаре и пивном агаре. Указанные среды мы рекомендуем для получения избыточного количества биомассы культур фитопатогенных бактерий, для усиления роста, а также для длительного хранения бактериальных культур в жизнеспособном состоянии, для пигментации и активации соответствующих ферментных комплексов. Установлена динамика роста и развития бактерий опытного штамма, особенно продолжительность фаз развития на разных питательных средах.

Литература

[Дьяков, 2012](#) – Дьяков Ю.Т. (Ред.). Фундаментальная фитопатология. М: Красанд, 2012.

Ковальчук и др., 2010 – Ковальчук В.П., Васильев В. Г., Бойко Л.В., Зосимов В.Д. Сборник методов исследования почв и растений. К.: Труд-ГриПол-XXI в. ис., 2010.

Методы определения болезней..., 1987 – Методы определения болезней и вредителей сельскохозяйственных растений. Пер. с нем. К.В. Попковой, В.А. Шмыгли. М.: Агропромиздат, 1987.

Тихонов и др., 2005 – Тихонов И.А., Кожемяков А.П., Чеботарь В.К., Круглов Ю.В., Кандыбин Н.В., Лантев Г.Ю. Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве. М. ВНИИСХМ, 2005.

Шкалик и др., 2005 – Шкалик В.А., Дьяков Ю.Т., Смирнов А.Н. и др. Иммуниет растений. М.: Колос, 2005.

Sinclair, Dhingra, 1995 – James B. Sinclair, Onkar Dev Dhingra. Basic plant pathology methods. Second Edition. CRC Press, 1995.

References

D'yakov, 2012 – D'yakov Yu.T. (2012). (Red.). Fundamental'naya fitopatologiya [Fundamental phytopathology]. M: Krasand.

Koval'chuk i dr., 2010 – Koval'chuk V.P., Vasil'ev V. G., Boiko L.V., Zosimov V.D. (2010). Sbornik metodov issledovaniya pochv i rastenii [Collection of methods for studying soils and plants.]. K.: Trud-GriPol-XXI v. is.

Metody opredeleniya boleznei..., 1987 – Metody opredeleniya boleznei i vrediteli sel'skokhozyaistvennykh rastenii [Methods for determining diseases and pests of agricultural plants]. Per. s nem. K.V. Popkovo, V.A. Shmygli. M.: Agropromizdat, 1987.

Tikhonov i dr., 2005 – Tikhonov I.A., Kozhemyakov A.P., Chebotar' V.K., Kруглов Yu.V., Kandybin N.V., Lantev G.Yu. (2005). Metodologiya i praktika primeneniya mikroorganizmov v rastenievodstve i kormoproizvodstve [Methodology and practice of application of microorganisms in plant growing and fodder production]. M. VNIISKhM.

Shkalikov i dr., 2005 – Shkalikov V.A., D'yakov Yu.T., Smirnov A.N. i dr. (2005). Immunitet rastenii [Methodology and practice of application of microorganisms in plant growing and fodder production]. M.: Kolos.

Sinclair, Dhingra, 1995 – James B. Sinclair, Onkar Dev Dhingra (1995). Basic plant pathology methods. Second Edition. CRC Press.

Изучение физиологических свойств некоторых фитопатогенных бактерий

Магда Давидовна Давиташвили ^{a,*}, Ламара Давидовна Зурошвили ^a, Гела Шотаевич Азикури ^a

^a Телавский государственный университет, Грузия

Аннотация. Изучены физиологические особенности питания некоторых фитопатогенных бактерий. Основное внимание уделено подбору питательных сред, так как вирулентность находится в коррелятивной связи с питанием бактерий. Подобраны естественные и синтетические среды для получения большого количества биомассы, ускорения роста, активирования пигментации и некоторых ферментных систем, а также длительного сохранения культур в состоянии активной жизнедеятельности. В связи с динамикой развития бактериальной инфекции в растениях изучена длительность фаз развития культур на разных средах.

Ключевые слова: фитопатогенные бактерий, питательная среда, вирулентность, ферментные системы, штаммы, инокулат, стационарная фаза, биомасса.

* Корреспондирующий автор

Адреса электронной почты: magdadav@gmail.com (М.Д. Давиташвили), zuroshvilila@gmail.com (Л.Д. Зурошвили), gelazi@yahoo.com (Г.Ш. Азикури)