

БІОЛОГІЧНІ НАУКИ

Корнієнко Н.О., Щека Є.І.

студенти;

Заїка С.А.

аспірант;

Юмина Ю.М.

кандидат біологічних наук, асистент;

Харіна А.В.

кандидат біологічних наук, доцент,

ННЦ «Інститут біології»,

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ЗБУДНИКА БАКТЕРІОЗУ ПЕРЕЦЮ ТА ВИДІЛЕННЯ СПЕЦИФІЧНИХ ДО НЬОГО БАКТЕРІОФАГІВ

Фітопатогенні бактерії завдають значної шкоди рослинництву, знижують урожайність цінних сільських господарських культур, і, як наслідок, призводять до значних економічних збитків. Перець (*Capsicum annuum* L.) є важливою для сільського господарства України культурою. Втрати врожаю перцю від бактеріозів досягають 50-90% [1]. Водночас класичні методи захисту сільськогосподарських угідь стають неефективними. У мікроорганізмів спостерігається явище резистентності до антибіотиків та біоцидів [2]. Виникає необхідність у пошуку альтернативних методів боротьби з фітопатогенними мікроорганізмами, і одними з найбільш багатообіцяючих засобів є препарати на основі бактеріофагів. Метою нашої роботи було виділення з довкілля і дослідження фітопатогенних бактерій, які уражують овочевий перець, та пошук специфічних до них бактеріофагів.

Зразки перцю овочевого відбирали на сільськогосподарських угіддях Кіровоградської області. Були відібрані уражені плоди перцю із симптомами м'якої бурої гнилі. Вміст зон ураження висівали стерильною бактеріальною петлею на поживне середовище. Бактерії висівали методом виснаженого штриха. Для виділення чистих ліній мікроорганізмів найбільш віддалені бактеріальні колонії відсівали у пробірки зі скошеним поживним середовищем. При первинному аналізі вивчали морфологічні особливості колоній мікроорганізмів, їх забарвлення, далі виготовляли мазки з бактеріальними культурами, які культивувалися на поживному середовищі упродовж 48 годин. Мазки фарбували за Грамом, визначали морфологію бактеріальних клітин за допомогою світлової мікроскопії. Для подальшої ідентифікації обрали ізолят Х-а, колонії якого зустрічались найчастіше. Колонії даної бактерії характеризувались іррегулярною формою і молочно-зеленкуватим забарвленням. За розміром колонії були великими, $d=6$ мм. Колонії мали випуклий профіль, хвилястий край, гладеньку поверхню. Подальший аналіз показав, що це грамнегативна паличка. Далі, після отримання чистої лінії

бактерії проводили дослідження їх біохімічних особливостей. Результати OF-тесту свідчать, що досліджуваний мікроорганізм мав змішаний тип метаболізму, оскільки залежно від умов середовища зброджував або окислював глюкозу. Ізолят Х-а виявився факультативним анаеробом. За результатами проведених аналізів, обраний ізолят був ідентифікований як фітопатогенна бактерія *Pectobacterium carotovorum*. Патовар виділеної бактерії наразі ще потребує визначення.

Для перевірки *P. carotovorum* на здатність викликати патофізіологічні процеси в організмі рослин використовували тютюн сорту «Самсун» (*Nicotiana L.*). Рослини на стадії 4-х справжніх листків уражували в листову пластинку та жилку шляхом уколу суспензією бактерії в концентрації 10^8 КУО/мл. При ураженні *P. carotovorum* рослин тютюну спостерігали утворення некрозів наступної доби після ураження, що свідчить про здатність бактерії викликати патофізіологічні зміни в рослині.

Після отримання чистих ліній мікроорганізмів працювали з їх бактеріофагами. Бактеріофаги, імовірно присутні в зразках, виділяли методом збагачення. Для цього знезаражені зони із симптомами розвитку фітопатогенних мікроорганізмів вирізали, занурювали у пробірку з рідким поживним середовищем і інкубували 12 годин за температури 27°C. Після цього проводили центрифугували у режимі 5000 об/хв впродовж 25 хв.

Наявність бактеріофагів у отриманих зразках перевіряли методом подвійних агарових шарів. Після первинних висівів було встановлено наявність бактеріофагів, присутніх у зразках. На газоні *P. carotovorum* утворювалася значна кількість дрібних, округлих, приблизно однакових за розмірами негативних колоній і декілька (3-4) окремих колоній більших за розмірами (рис. 1.):

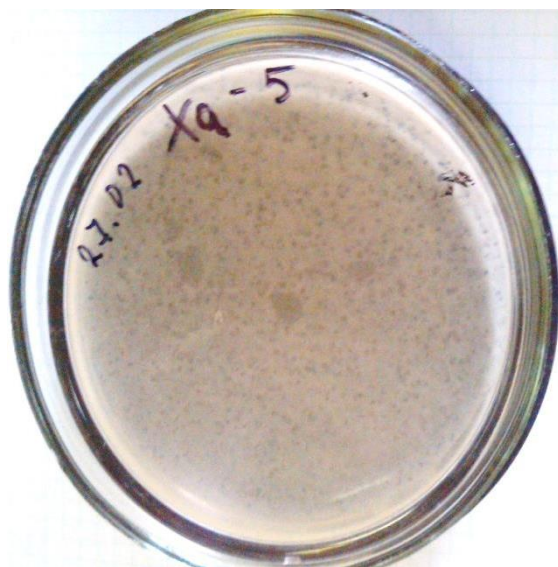


Рис. 1. Негативні колонії на бактеріальному газоні ізоляту *P. carotovorum*

Джерело: розроблено авторами

Це свідчить про те, що на культуральному середовищі продукувалися різні за видом фаги, які лізували даний ізолят мікроорганізмів. Для подальшої роботи ми обрали бактеріофаг, який утворював колонії маленького розміру.

Наступним кроком проводили виділення чистих ліній бактеріофагів шляхом пасування бактеріофагів із однієї сколеної негативної колонії не менше

4 разів. Далі вірус накопичували і визначали його титр за допомогою спот-тесту (рис. 2).

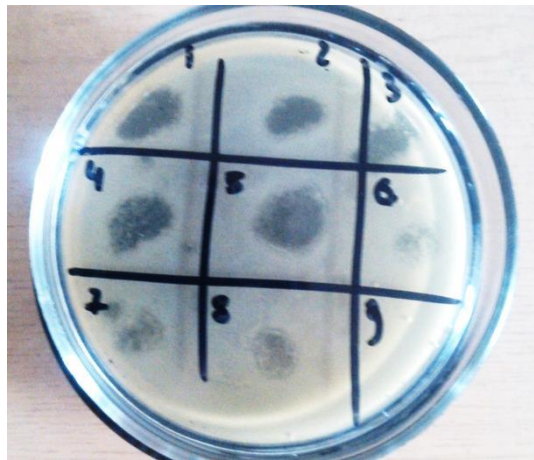


Рис. 2. Визначення титру бактеріофага за допомогою методу спот-тест
Джерело: розроблено авторами

Отримали результати, які показали, що титр фага, визначений за методом спот-тесту, становить 10^9 БУО/мл.

Морфологічні особливості виділених бактеріофагів вивчали за допомогою методу електронної мікроскопії. Для цього виготовляли форм варові сіточки-підкладинки, контрастером був 2% розчин ураніацетату. Було встановлено, що віруси, які уражують бактерії *P. carotovorum*, належать до родини *Myoviridae* порядку *Caudovirales*. Морфотип вірусів – А2 (рис. 3.)

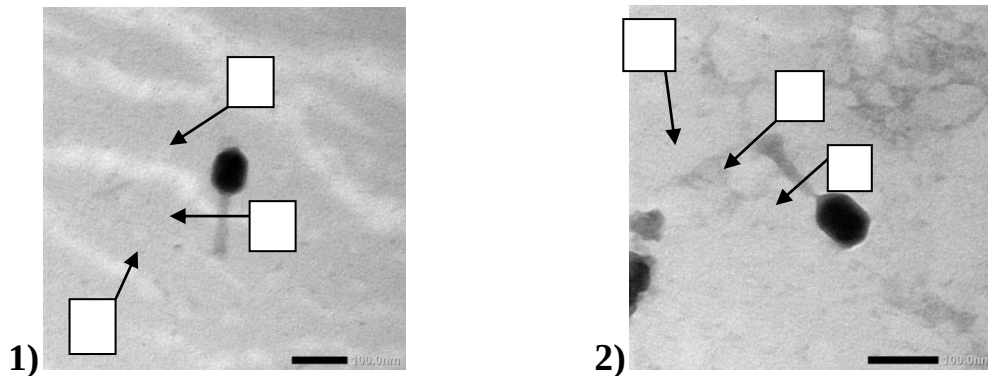


Рис. 3. Електронно-мікроскопічні зображення бактеріофагів специфічних до *P. carotovorum*: 1) базальна пластинка; 2) хвостовий відросток; 3) голівка.

Джерело: розроблено авторами

Розміри бактеріофагів на зображеннях: голівка $\sim 86 \pm 3 \times 67 \pm 2$ нм; хвостовий відросток $\sim 101 \pm 9 \times 14 \pm 3$ нм.

Отже, було виділено та ідентифіковано фітопатогенну бактерію *P. carotovorum*, яка спричинює бактеріоз перцю овочевого. Було перевірено фітопатогенну активність *P. carotovorum* на рослинах тютюну. До цієї бактерії було виділено специфічний бактеріофаг, який відноситься до родини *Myoviridae* порядку *Caudovirales* і має морфотип А2. У подальшій роботі планується дослідження активності цих фагів та використання їх у майбутньому у якості засобу для боротьби з бактеріозами перцю.

Список використаних джерел:

1. Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби рослин: монографія / [Р. І. Гвоздяк, Л. А. Пасічник, Л. М. Яковлева та ін.]; за ред. В. П. Патики. – К.: ТОВ «НВП «Інтерсервіс», 2011. – 444 с.
2. Civerolo EL. Disease management by cultural practices and environmental control. In: Mount MS, Lacy GH, eds. Phytopathogenic Prokaryotes. – 1982. New York: Academic Press, 1982: 343–60.

Лучко Е.Н.

аспирант,

Научный руководитель: Атраментова Л.А.

доктор биологических наук, профессор,

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина

**ЗНАЧЕНИЯ АГРЕССИВНОСТИ И ЭМПАТИИ
У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЕЙ И ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ**

Городская среда всё ещё является необычной для человека, предыдущая эволюция которого происходила в популяциях совсем иного – малочисленных, часто в той или иной степени изолированных [1, с. 3]. Для выходцев из малочисленных населённых пунктов жизнь в городе создаёт дополнительный стресс по сравнению с коренным населением, в большей степени адаптированным к урбанистическим условиям [3, с. 3]. Городской житель испытывает более сильное давление физических, химических и психических нагрузок, чем житель сельской местности. Стрессирование может оказаться дополнительным фактором, провоцирующим системные заболевания, в частности, сердечно-сосудистые [2, с. 3]. Постоянное сдерживание агрессивных импульсов повышает артериальное давление [3, с. 3].

Одной из задач генетики поведения человека является изучение наследственных и средовых причин отклоняющегося поведения и психосоматических заболеваний [5, с. 3]. Исследования в отношении поведения человека, как правило, направлены на изучение психопатологии и не касаются практически здорового населения, определённая часть которого ежегодно переходит в категорию больных [6, с. 3]. Теоретическая и практическая значимость выявления связи между личностными характеристиками человека и его соматическими заболеваниями является актуальной, поскольку решение этого вопроса позволит широкому кругу специалистов (психологам, медикам, биологам и т.д.), используя полученную информацию, находить более действенные методы коррекции, лечения и профилактики психосоматических заболеваний.

Цель исследования – выяснить связь между уровнем общей агрессивности и эмпатии у больных гипертонией и здоровых людей.

В исследовании приняли участие 363 жителя города Харькова в возрасте 45-65 лет. Сформированы две выборки: одна методом пробанда, которую составили больные гипертонией, стоящие на учёте в клинике (54 человек), и случайная выборка из населения (309 человек). Путём анкетирования выясняли место рождения обследованных, а также их родителей. Для исследования