

Закернична Інеса
слухач магістратури

Лукіна Анна
слухач магістратури

Науковий керівник: к.б.н., доцент Жумінська Г. І.
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
м. Одеса

Бойко Анастасія
аспірант

Науковий керівник: д.б.н., член-кореспондент НАНУ Товкач Ф. І.
Інститут мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного
м. Київ

ВИЗНАЧЕННЯ НОВИХ ЛІТИЧНИХ БАКТЕРІОФАГІВ ***PANTOEA AGGLOMERANS***

Бактеріофаги є широко розповсюдженими та важливими агентами регулювання чисельності бактеріальної мікрофлори в природі [3]. Молекулярно-генетичні дослідження фагів дозволяють висвітлити та пояснити складний механізм взаємозв'язку між фагом та клітиною [1, 3].

Виявлення нових вірулентних фагів деревних патогенів проводили використовуючи нову універсальну систему на основі набору штамів *P. agglomerans*.

Штами *P. agglomerans* є найбільш перспективними серед біоконтролюючих агентів, так як можуть бути антагоністами по відношенню до фітопатогенів, мають антибактеріальну та протигрибкову активність, здатні до конкуренції при колонізації рослин [2].

Із ураженої бактеріальним опіком груші було виділено ізолят, який містив полівалентні літичні фаги. Було виявлено негативні колонії 2-х типів вірулентних фагів та присутність часток різної електрофоретичної рухливості, що свідчить про гетерогенність досліджуваного ізоляту 6*. Превалюючу та мінорну частини популяції бактеріофагів розділили за допомогою методу хроматографії низького тиску (LPLC) . Але вдалося отримати тільки частки превалюючих KEY-подібних фагів. Тому наступним кроком було виділення мінорної частини бактеріофагів з метою повного аналізу усіх компонентів ізоляту.

Мінорна частина фагів була одержана шляхом отримання бактеріальних мутантів, стійких до превалюючих фагів. Дослідження проводили з використанням набору індикаторних культур *P. agglomerans* і *Erwinia amylovora* K8. Стійкі до фагів R-мутанти одержували, використовуючи культуру *P. agglomerans*, на якій спостерігалась найбільша ефективність висіву (ЕВ) превалюючих фагів. Після клонування на бактеріальних мутантах вдалося одержати чисті лінії 5-ти фагів. Дані фаги мали літичну природу. Відмінною особливістю нових фагів була наявність прозорості та чітких контурів негативних колоній, а також нестабільність при очищенні в градієнті хлористого цезію.

Із застосуванням рестрикційного аналізу було виявлено різну кількість фрагментів ДНК між KEY-подібними фагами і фагами FAN (які представляють мінорну частину популяції). KEY-подібні фаги містять додаткові фрагменти ДНК, що свідчить про більш складну будову їх генома, у порівнянні з FAN фагами.

За даними електронно-мікроскопічного аналізу обидві групи фагів – KEY-подібні та FAN віднесені до родини *Siphoviridae* B1-морфотипу, мають ікосаедричний капсид, хвостовий відросток, що не скорочується. Добре виражена дистальна частина хвостового відростка FAN фагів, до складу якої входить складна клиноподібна базальна пластинка. На додаток до цього, розташування субодиниць хвостового відростка утворює явну перехресну смугастість, на відміну від поперечної смугастості, властивої для хвостових відростків переважної більшості фагів *Siphoviridae*. Характерною особливістю FAN фагів є незвична будова прикріпного апарату, що дає можливість первинно адсорбуватися до джгутиків.

Таким чином, в ході роботи було виявлено 2 типи фагів. I тип - KEY-подібні фаги, II тип – фаги FAN. Отримані результати свідчать про те, що гетерогенні фагові ізоляти отримані з матеріалу, ураженого бактеріальним опіком, який викликає *E. amylovora*, містять суміш популяцій, яка представлена переважаними та додатковими (мінорними) бактеріофагами. Загальна схема

одержання бактеріофагів може бути застосована не тільки для боротьби з фітопатогенами, але й з іншими інфекційними агентами людини та тварин.

Література

1. Товкач Ф. И., Мороз С. Н., Король Н. А. Поливалентность бактериофагов, изолированных из плодовых деревьев, пораженных бактериальным ожогом. *Мікробіологічний журнал*. 2013. Т. 75, № 2. С. 80–88.
2. Товкач Ф. И., Файдюк Ю. В., Король Н. А., Кушкина А. И., Мороз С. Н., Мучник Ф. В. Электронная микроскопия и рестрикционный анализ бактериофагов, изолированных из айвы и груши с симптомами бактериального ожога. *Мікробіологічний журнал*. 2013. Т. 75, № 5. С. 67–75.
3. Faiduk Y. V., Boyko A. A., Muchnyk F. I., Tovkach F. V. Virion morphology and structural organization of polyvalent bacteriophages TT10-27 and KEY. *Мікробіологічний журнал*. 2015. Vol. 77, № 3. С. 36–46.

