

СМАЛЬЧУК Д.С.

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова
ул. Дворянская, 2, м. Одесса, 65082, Украина
e-mail: smalchukdaria@gmail.com; + 380667365711

ПЕРВИЧНЫЙ СКРИНИНГ ШТАМОВ *P. AGGLOMERANS*, *C. DAVISAE*, *D. DADANTII*, ВЫДЕЛЕНИХ ИЗ ОПУХОЛЕЙ ВИНОГРАДА, НА НАЯВНОСТЬ ПЛАЗМИД

Ключевые слова: виноградные ткани, опухоли винограда, плазмиды, *Pantoea agglomerans*, *Cedecea davisae*, *Dickeya dadantii*.

Наличие в бактериальных клетках генетических мобильных элементов, а именно плазмид, обуславливает изменения в жизнедеятельности клетки, которые также отражаются на взаимодействии их с другими микроорганизмами в среде обитания (Bashir et al., 2014). Изучение плазмид является актуальным, так как позволяет выяснить их роль в метаболических процессах и в наличии факторов патогенности у родов, которые были обнаружены в опухоли культурного винограда (Bruez et al., 2015).

Целью данной работы было провести первичный скрининг штаммов *P. agglomerans*, *C. davisae*, *D. dadantii* на наличие плазмид, размер которых не превышает 100 000 пар оснований. Объектом исследования было наличие мобильных генетических объектов в штаммах, которые были изолированы из заражённых частей винограда. Предметом исследования были маленькие плазмиды родов *Pantoea*, *Cedecea*, *Dickeya*, что колонизируют опухоли винограда.

Для проведения исследования были использованы 8 штаммов *P. agglomerans*, выделенных их опухоли винограда, 4 штамма *C. davisae*, которые были изолированы из опухоли винограда и 2 штамма *D. dadantii*, изолированных из опухоли винограда. При проведении работы был использован метод Кадо и Лио, для выделения плазмид, размер которых находится в пределах от 1000 до 100 000 пар основ (Сергеева Ж.Ю., Иваница В.А., 2014). Для этого ночную бактериальную культуру, полученную с твердой питательной среды, ресуспендировали в 100 мкл буфера Ex1 (40 mM Tris-HCl, 2 mM EDTA pH 7,9), добавляли двойной объем лизирующего буфера Кадо и Лио (Tris-HCl – 609 мг, додецилсульфат натрия – 3г, 2M NaOH – 2,2 мл, H₂O – 100 мл). Образцы инкубировали в течение 45 минут при 60 °C. После этого к образцам добавляли двойной объем смеси кислого фенола с хлороформом (1:1), перемешивали и центрифугировали 15 минут при 8000 g. Надосадочную

жидкость исследовали на наличие плазмидной ДНК с помощью проведения электрофореза с использованием 0,8 % агарозного геля, при $U = 40-60$.

Результаты. Изучение полученных электрофореграмм засвидетельствовали наличие плазмид в опухолевых штаммах *P. agglomerans* ОНУ 6, ОНУ 32, ОНУ 36, ОНУ 41 и ОНУ 41а. Также они были найдены в штаммах *C. davisae* ОНУ 12 ОНУ 13 и ОНУ 24. Было найдено маленькие плазмиды в штаммах *D. dadantii* ОНУ 5 и ОНУ 16. Полученные нами данные соответствуют данным литературы (Palmer et al., 2018), которые сообщают о случаях наличия плазмид, размером от 1000 до 100 000 пар оснований, в исследуемых видах.

Вывод. Исходя из полученных результатов, можем предположить, что наличие плазмид способствует адаптации непатогенных штаммов к условиям существования в заражённом растении. Перспективным является изучение приобретённых свойств, которые кодируются плазмидой, изучение найденных плазмид с помощью проведения рестрикции, сравнение полученных данных с известными данными в генетических банках и построение генетических карт.

Резюме. The study of bacterial strains of the *Pantoea agglomerans*, *Cedecea davisae*, *Dickeya dadantii* isolated from grape tumors been carried out for the presence of small plasmids using classic method Kado and Lio the isolation of plasmids.

From the results obtained, it is assumed that the plasmids adapt non-pathogenic strains to the conditions of existence in a diseased plant.