

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ

трофічного використання джерел вуглецю патогенними бактеріями печериць (*Agaricus bisporus*)

Мета. Вивчити функціональні особливості патогенних бактерій, ізольованих з *Agaricus bisporus*, залежно від джерел вуглецевого живлення. **Методи.** Предметом дослідження слугували 16 ізолятів патогенних бактерій, виділених з *Agaricus bisporus*. Вони проявлялися як первинні інфекції на стадії активного росту гриба і є типовими лише для печериць. У роботі використали біотехнологічні методи досліджень. Для ідентифікації виділених культур мікроорганізмів їх висівали на синтетичних середовищах із внесенням відповідних цукрів для розщеплення джерел вуглецю. За допомогою біохімічних методів визначали трофічні особливості патогенних бактерій з метою розробки біотехнологій контролю їхнього поширення. Оксидазну активність бактерій визначали за методом Ковача на мембранному фільтрі, попередньо змоченому NN-диметил-п-фенілен-діамін сульфатом. Каталазну активність визначали, додаючи до краплі культури розчин перекису водню 10%. Використали інноваційний та універсальний метод визначення джерел вуглецевого живлення мікроорганізмів — KB009 TM HiCarbo Kit. **Результати.** Визначили джерела вуглецевого живлення патогенних бактерій за допомогою тест-системи. Ізолят 9.4 утилізує цукри — ксилозу, декстрозу, галактозу, — які належать до моносахаридів та мелібіозу, L-арабінозу, маннозу, ОНПГ (орто-нітрофеніл-β-галактопіраноза), ескулін, цитрат, малонат. Ізолят 6.2 при тестуванні показав позитивний результат на ксилозу, декстрозу. Ізолят 6.1 використовує такі цукри: декстроза, трегалоза, мелібіоза, манноза. Ізолят 9.5 засвідчує присутність ОНПГ, ескуліну, цитрату та малонату, відсутність каталази. Позитивну реакцію на оксидазу мають ізоляти 11.1 та 9.5. Слабку реакцію мали ізоляти 6.2 та 13.2. Джерелами вуглецевого живлення виявлено

¹**Т.В. ІВАНОВА,**
кандидат сільськогосподарських наук

²**М.В. ПАТИКА,**
доктор сільськогосподарських наук

³**Т.В. ТАРАСЮК**
Національний університет біоресурсів
і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ,
03041, Україна
e-mail: tivanova1@ukr.net

цукри групи моносахаридів (ксилозу, декстрозу, галактозу), полісахаридів та амінокислоти. Реакція на розщеплення вуглеводів показала, що всі ізоляти мали окисний тип метаболізму. **Висновки.** Вивчено біохімічні властивості реакції на розщеплення вуглеводів на синтетичному середовищі, оксидазну активність бактерій за методом Ковача, каталазну активність та джерела вуглецевого живлення патогенних бактерій, виділених із плодівих тіл *Agaricus bisporus*.

***Agaricus bisporus*, патогени, ізоляти, джерела вуглецю, ферментативна активність**

Agaricus bisporus є одним із найбільш культивованих та найбільш вживаним грибом у світі. Плодові тіла бувають від 3 до 25 см в діаметрі залежно від виду. Печериця — гетеротрофний сапрофітний гриб, який живиться органічними й мінеральними речовинами, отримуючи їх з решток рослин і тварин, що розкладаються. Гриб має міцелій (грибницю), гіфи якої переплітаються між собою, та плодове тіло. Карпофор складається з шапинки (діаметром 3—8 см) та ніжки (3—10 см заввишки та 3—4 см завширшки). Під шапинкою знаходяться пластинки від темно-коричневого до рожевого кольору. Пластинки утворені гіфами, на яких розвиваються спори. Гіменофор

пластинчастий. Ніжка має розмір 3—6 × 1—2 см. Вона вкрита частковим покривалом, яке закриває гіменофор та захищає пластинки гриба від зовнішнього впливу. При дозріванні спор ніжка гриба видовжується, покривало розривається і відбувається висівання спор. Розмноження гриба відбувається вегетативно (поділом грибниці) та спорами, які розносять вітер. За вегетативного способу розмноження, в асептичних умовах, шматочки гіф висаджують на живильне середовище. Гіфи розростаються та утворюють міцелій, який використовують для розведення грибів на грибних підприємствах. Гриб вибагливий до умов вирощування. Для його розвитку світло не потрібне, тому що сильна освітленість негативно впливає на його розвиток. Вимоги печериці до температурного режиму залежать від фази її розвитку [1]. Для проростання міцелію температура субстрату має становити 24—28°C, а в період плодоношення — 18—22°C. За температури 33°C грибниця гине, а за температури 3°C ріст її припиняється, хоча життєздатність зберігається навіть за температури нижче 0°C. Оптимальна температура повітря для розвитку плодового тіла гриба — 16°C. Плодоношення припиняється за температури менш як 10°C та понад 20°C. Печериця вимагає певних параметрів вологості живильного середовища і повітря. Під час росту міцелію вологість субстрату має бути 67—69%, а під час плодоношення — 65—67%. Різкі коливання температури і відносної вологості повітря негативно впливають на розвиток культури [1]. У живленні гриба найбільше значення мають азотовмісні сполуки, з яких він використовує білки, пептони, амінокислоти та амонійні солі, і вуглеводи (целюлоза, геміцелюлоза і лігнін). Для розвитку необхідні також калій, магній, сірка,

фосфор, залізо і кальцій. Щоб забезпечити отримання високих урожаїв, всі перелічені елементи мають знаходитися в субстраті у певному співвідношенні. Оптимальна величина рН середовища для росту гриба близька до нейтральної (рН = 6,5...7,5) [1, 2].

Харчова цінність їстівних грибів зумовлена високим умістом білка, клітковини, вітамінів, мінералів та низьким вмістом жиру [2]. Крім того, гриби мають більший вміст білка, ніж більшість овочів. Їстівні гриби містять багато різних біологічно активних сполук, що позитивно впливають на здоров'я людини [3].

Гриби мають високий відсоток вологи — від 80 до 95 г/100 г. Як зазначено вище, їстівні гриби є гарним джерелом білка — 200—250 г/кг сухої речовини. Леїцин, валін, глютамін, глютамінова та аспарагінова кислоти є найбільш поширеними. Гриби — це низькокалорійний продукт, що містить жиру 20—30 г/кг сухої речовини. В них містяться жирні кислоти: лінолева, олеїнова та пальмітинова.

Харчові гриби містять велику кількість золи — 80—120 г/кг сухої речовини (головним чином калію, фосфору, магнію, кальцію, міді, заліза та цинку). В їстівних грибах у високих пропорціях містяться вуглеводи, включаючи хітин, глікоген, трегалозу та манітол (табл. 1); крім того, вони містять клітковину, β -глюкани, геміцелюлозу та пектинові речовини. Глюкоза, манітол і трегалоза є надлишковими цукрами у культивованих їстівних грибах, але фруктоза та сахароза трапляються в малих кількостях (табл. 1). Гриби також є гарним джерелом вітамінів з високим рівнем рибофлавіну (вітаміну B_2), ніацину, фолатів та слідів вітаміну С, B_1 , B_{12} , Д і Е. Гриби — це єдине джерело їжі, яке містить вітамін Д, а отже, вони є єдиними природними компонентами вітаміну Д для вегетаріанців. Дикі гриби, як правило, відмінні джерела вітаміну D_2 на відміну від культивованих. Зазвичай культивовані гриби ростуть

у темряві, а ультрафіолетове світло потрібне для отримання вітаміну D_2 [3, 4].

Найчастіше на печериці трапляються бактеріальні інфекції — бура плямистість та муміфікація.

Збудник **бурої плямистості** — бактерії *Pseudomonas tolaasii* Paine, *P. Ginger* і *Preeceet Wong*. Це палички розміром 0,7—3,0 мкм, рухаються за допомогою джгутиків, не утворюють жовто-оранжевих пігментів, оксидазопозитивні, використовують трегалозу. Мають аргініндегідралазну систему, не містять лізиндекарбоксилазу, орнітиндекарбоксилазу, амілазу, не усвоюють целобіозу, саліцин, гліколеву кислоту [5]. Як патоген, *P. tolaasii* може заражати майже всі види грибів. Хвороба виникає на плодових тілах у вигляді дрібних блискучих жовтих чи ірисовожовтих (а пізніше шоколадного кольору) плям на поверхні шапинки. Плями розташовані на поверхні, всередину тканини шапинки вони проникають не більше ніж на 1—2 мм. Плодові тіла, уражені бактеріальною плямистістю, злегка в'язкі й липкі на дотик. Цей патоген зменшує врожай на 5—10% [5]. Немає таких заходів захисту, щоб повністю знищити захворювання.

Збудником **хвороби муміфікація** є бактерії *Pseudomonas spp.* Schisler (Singer, Sigel). Вважається, що клітини бактерій проникають в клітинні стінки гіфів міцелія, де вони розмножуються і призводять до порушення обміну речовин у печериць. За розрізування плодового тіла чути скрипіння, а тканина на розрізі — коричневого забарвлення. Інколи виникає порожнина, яка заповнюється бактеріальним слизом. Триває пошук біотехнологічних прийомів для контролю даної бактеріальної інфекції [5—7].

Хворобу гіменофора викликає *Pseudomonas cichorii*. Бактерії розвиваються на пластинках гіменофору, що поступово стають драглистими та руйнуються [5—8]. Симптоми хвороби, викликані *Pseudomonas agarici*: кре-

мово-сірі бактеріальні плями, що спостерігаються на гіменофорі, оточені темно-коричневими або чорними плямами в розмірі до 2 мм або більше, плями можуть об'єднуватися; у важких випадках тканини руйнуються і стають білого кольору; на ніжці гриба, як правило, розвиваються дрібні поздовжні розколи, що стають коричневими з віком. Характерно, що прояв хвороби стає більш серйозним з кожною наступною хвилею плодоношення.

Ферментативну активність, зокрема пероксидазну, нерідко використовують як індикатор стресового стану і важливе значення в антиоксидантному статусі грибів відіграє фермент поліфенолоксидаза, який за стресових умов каталізує механізми утворення захисних бар'єрів механічної або хімічної природи.

Метою даної роботи було дослідити функціональні особливості патогенних бактерій, ізольованих з *Agaricus bisporus*, залежно від джерел вуглецевого живлення.

Матеріалу і методи. Матеріалом для даного дослідження були плодові тіла печериці двоспорової (*Agaricus bisporus*, штам Silvan 130). Для експерименту відбирали зразки із вираженими ознаками ураження і розвитку патогенів та без них. В якості контролю слугували плодові тіла печериці, відібраної за результатами візуального огляду на симптоми пошкодження. Досліди виконували у триразовому повторенні упродовж 2018—2019 рр. на кафедрі екобіотехнології і біорізноманіття Національного університету біоресурсів і природокористування України та в Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Для виділення та ідентифікації патогенів з печериць мікробіологічним методом відбирали зразки із явними ознаками (жовтуваті плями круглої чи неправильної форми, які з часом стають темнішими, набувають коричневого кольору, з деформацією плодових тіл, уражені поверхні покриті шаром коричневого слизу та сухими плямами).

Вивчення біохімічних властивостей патогенних бактерій необхідне для визначення їхньої родової і видової приналежності. Для виявлення і вивчення цих власти-

1. Вміст цукрів та жирних кислот в *Agaricus bisporus* (суха маса) [10]

Цукри, (г/100 г свіжої маси)	Фруктоза	Манітол	Сахароза	Трегалоза	Всього цукру
	0,03	5,6	—	0,16	5,79
Жирні кислоти, (г/100 г свіжої маси)	Пальмітинова	Стеаринова	Олеїнова	Лінолева	Ліноленова
	11,9	3,1	1,1	77,7	0,1

востей культуру бактерій висівають на поживні середовища, що містять у своєму складі різноманітні джерела вуглецю [5–9].

Патогенні бактерії засівають добою культуру бактерій на поживні середовища, знятою петлею з агару, або бактеріальною суспензією. Після інкубування у термостаті враховують результати ферментації вуглецю на 2-й, 4-, 7-, 10-й дні, відзначаючи початок кислото- і газоутворення. Утворення кислоти або лугу в пробірках відбувається зі зміною кольору живильного середовища. Деякі види патогенних бактерій спричиняють повільне кислотоутворення, тому пробірки слід витримувати в термостаті до 14 діб задля переконання, що у бактерій є здатність розщеплювати вуглеводи [9–11].

Оксидазну активність (наявність цитохром-с-оксидази) визначають методом Ковача. Бактеріальну масу однодобової культури платиновою петлею наносять на фільтрувальний папір, попередньо змочений 1% розчином NN-диметил-п-фенілен-діамін сульфату. Позитивна оксидазна реакція (темно-червоного забарвлення бактеріальної маси) з'являється за 5–10 секунд. Мікроорганізми є оксидазонегативними якщо колір бактеріальної маси не змінюється [11–13].

Каталазну активність у ізолятів

бактерій виявляють за допомогою 10% розчину перекису водню. Дводобову культуру бактерій розтирають на скельці й додають по краплі розчин перекису водню. Поява бульбашок газу свідчить про наявність каталази [11–13].

Визначення джерел вуглецевого живлення патогенних бактерій, ізольованих із плодів тил печериці двоспорової, проводили за допомогою стандартизованої колориметричної системи ідентифікації KB009 TM HiCarbo Kit, що заснована на принципі зміни рН та утилізації субстрату (рис. 1).

KB009 не можна використовувати безпосередньо на клінічних зразках. Ідентифікований організм повинні бути ізольованими та очищеними. Необхідно використовувати тільки чисті культури.

Ідентифікований організм ізолюють на звичайному середовищі, такому як м'ясо-пептонний агар або серцево-мозковий агар. Підбирають одну ізольовану колонію та інокулюють на 5 мл серцево-мозкового агару й інкубують за 35–37°C протягом 4–6 год, поки помутніння інокулята становитиме 0,5 ОД при 620 нм.

Під час інкубації у організмах відбуваються метаболічні зміни, які можливо виявити за спонтанною зміною кольору середовища.

Трактувати результати можна за діаграмою інтерпретації результатів (рис. 2).

Тест на вуглець. Колір середовища змінюється від червоного до жовтого за рахунок утворення кислоти і це свідчить, що тест є позитивним. Якщо тест негативний, колір середовища залишається червоним.

Тест ONPG. Середовище змінюється від безбарвного до жовтого, якщо тест є позитивним. Середовище залишається безбарвним, якщо тест негативний.

Гідроліз ескуліну. Колір середо-

вища змінюється від кремового до чорного якщо тест є позитивним. У середовища залишається кремовий колір якщо тест негативний.

Утилізація цитрату. Колір середовища змінюється від жовто-зеленого до зеленого кольору, якщо тест є позитивним. Середовище залишається жовто-зеленого кольору, якщо тест негативний.

Утилізація малонату. Колір середовища змінюється від світло-зеленого до синього кольору, якщо тест є позитивним. Якщо колір не змінюється то тест негативний.

Результати. Вивчення біохімічних властивостей мікроорганізмів необхідне для визначення їхньої родової та видової приналежності. Для ідентифікації виділених культур мікроорганізмів проводили реакції на розщеплення вуглецю на синтетичному середовищі Омелянського з внесенням відповідних джерел вуглецю. Спостерігали результати ферментації на 2-й, 4-, 7- і 10-й дні. Оксидазну активність бактерій за методом Ковача визначали на мембранному фільтрі, попередньо змоченому NN-диметил-п-фенілендіамін сульфатом. Каталазну активність визначали, додаючи до каплі культури розчин перекису водню 10%. При позитивній реакції (наявності каталази) перекис водню буде розкладатися з утворенням води та виділенням вуглекислого газу у вигляді бульбашок. Результати наведено в таблиці 2.

За даними таблиці 2 ізолят 9.5 має негативний результат на каталазу. Позитивну реакцію на оксидазу показали ізоляти 11.1 та 9.5. Слабку реакцію мали ізоляти 6.2 та 13.1. Реакція на розщеплення

2. Біохімічні властивості бактеріальних штамів, ізольованих із уражених тканин печериці двоспорової



Рис. 1. Загальний вигляд тест-системи KB009 TM HiCarbo Kit

Test	Principle	Original colour of the medium	Positive reaction	Negative reaction
Carbohydrate utilization	Detects carbohydrate utilization	Pinkish Red / Red	Yellow	Red / Pink
ONPG	Detects β -galactosidase activity	Colourless	Yellow	Colourless
Esculin hydrolysis	Detects esculin hydrolysis	Cream	Black	Cream
Citrate utilization	Detects capability of organism to utilize citrate as a sole carbon source	Green	Blue	Green
Malonate utilization	Detects capability of organism to utilize sodium malonate as a sole carbon source	Light green	Blue	Light green

Рис. 2. Діаграма інтерпретації результатів

Ізолят	Оксидаза за Ковачем	Каталаза	Метаболізм глюкози
Ізолят 9.4	–	+	О
Ізолят 6.2	+/-	+	О
Ізолят 6.1	–	+	О
Ізолят 13.1	+/-	+	О
Ізолят 11.1	+	+	О
Ізолят 9.5	+	–	О

Примітки: «+» — наявність ознаки; «–» — відсутність ознаки; «П» — палички; «+/-» — слабка реакція; «О» — окисний

вуглеводів показала, що всі ізоляти мали окисний тип метаболізму.

Ідентифікація організмів є одним з найбільш важливих і трудомістких етапів біологічних досліджень. Нині поширеним методом розпізнавання бактерій є ферментативний метод — визначення біохімічних властивостей, пов'язаних зі здатністю бактеріальної культури розщеплювати цукри, білки та інші сполуки.

У даній роботі використано інноваційний, універсальний метод визначення джерел вуглецевого живлення мікроорганізмів — KB009 TM HiCarbo Kit. KB009 — це комплексна система тестування, яка може використовуватися для вивчення біохімічного

ного профілю широкого спектра організмів.

Дана тест-система має 35 тестів та 1 контроль для визначення утилізації вуглецю. Вони засновані на принципі зміни рН та утилізації субстрату.

У досліді використано 4 ізоляти, одержані з печериць (*Agaricus bisporus*) (рис. 3). Під час інкубації у організмах відбулися метаболічні зміни, що проявлялися спонтанною зміною кольору середовища, яку можна було спостерігати на другий день після інокуляції. Результати тестів наведено у таблиці 3.

З результатів тестів на поглинання вуглецю можна зробити висновок, що ізолят 9.4 утилізує

такі цукри: ксилоза, декстроза, галактоза, мелібіоза L-арабіноза, манноза, ОНПГ (орто-нітрофеніл-β-галактопіраноза), ескулін, цитрат, малонат (рис. 4, А). Ізолят 6.2 показав позитивний результат на ксилозу, декстрозу, галактозу, мелібіозу L-арабінозу, маннозу, саліцин, ОНПГ (орто-нітрофеніл-β-галактопіранозу), ескулін, цитрат, малонат (рис. 4, Б). Ізолят 6.1 живиться цукрами: декстроза, трегалоза, мелібіоза, манноза, ОНПГ (орто-нітрофеніл-β-галактопіраноза), ескулін, цитрат, малонат (рис. 4, В). Виявлено позитивну реакцію на тести ізоляту 9.5, де мікроорганізми утилізували цукри: ОНПГ (орто-нітрофеніл-β-галактопіраноза), ескулін, цитрат та малонат (рис. 4, Г).

Експериментальним методом з використанням комплексної системи KB009 визначено джерела вуглецевого живлення досліджуваних мікроорганізмів. KB009 можна використовувати для вивчення біохімічного профілю широкого спектра організмів. Проте визначення біохімічних властивостей мікроорганізмів є лише однією з частин комплексу досліджень для ідентифікації мікроорганізмів. Для точного визначення ізолятів у подальшому слід провести більш детальні дослідження метаболічних, морфологічних, культуральних та антигенних властивостей мікроорганізмів. Дані про джерела вуглецевого живлення значно спростять ідентифікацію приналежності мікроорганізмів, виділених з печериці двоспорової, до певного виду, роду та типу.

ВИСНОВКИ

Провівши реакції з визначення біохімічних властивостей, можна зробити висновок, що ізолят 9.5 має негативний результат на каталазу. Позитив-

3. Функціональне використання джерел вуглецю патогенними бактеріями

№	Тест	9.4	6.2	6.1	9.5
1	Лактоза	—	—	—	—
2	Ксилоза	+	+	+	—
3	Мальтоза	—	—	—	—
4	Фруктоза	—	—	—	—
5	Декстроза	+	+	+	—
6	Галактоза	+	+	+	—
7	Раффіноза	—	—	—	—
8	Трегалоза	—	—	+	—
9	Мелібіоза	+	+	+	—
10	Сахароза	—	—	—	—
11	L-арабіноза	+	+	+	—
12	Манноза	+	+	+	—
13	Інулін	—	—	—	—
14	Глюконат натрію	—	—	—	—
15	Гліцерол	—	—	—	—
16	Саліцин	—	+	—	—
17	Дульцин	—	—	—	—
18	Інозин	—	—	—	—
19	Сорбітол	—	—	—	—
20	Манітол	—	—	—	—
21	Адонітол	—	—	—	—
22	Арабітол	—	—	—	—
23	Еритрит	—	—	—	—
24	Альфа-метил-D-глюкозид	—	—	—	—
25	Рамноза	—	—	—	—
26	Целобіоза	—	—	—	—
27	Мелезитоза	—	—	—	—
28	Альфа-метил-D-манноза	—	—	—	—
29	Ксиліт	—	—	—	—
30	ОНПГ (орто-нітрофеніл-β-галактопіраноза)	+	+	+	+
31	Ескулін	+	+	+	+
32	D-арабіноза,	—	—	—	—
33	Цитрат	+	+	+	+
34	Малонат	+	+	+	+
35	Сорбоза	—	—	—	—



Рис. 3. Інокульовані середовища тест-системи



Рис. 4. Результати тесту ізолятів

ну реакцію на оксидазу показали ізоляти 11.1 та 9.5. Слабку реакцію мали ізоляти 6.2 та 13.2. Реакція на розщеплення вуглеводів показала, що всі ізоляти мали окисний тип метаболізму.

Визначивши джерела вуглеводного живлення патогенних бактерій за допомогою тест-системи KB009 TM HiCarbo Kit, одержали наступні результати: **ізолят 9.4** утилізує цукри — ксилозу, декстрозу, галактозу, мелібіозу L-арабінозу, маннозу, ОНПГ (орто-нітрофеніл-β-галактопіраноза), ескулін, цитрат, малонат; **ізолят 6.2** — ксилозу, декстрозу, галактозу, мелібіозу L-арабінозу, маннозу, саліцин, ОНПГ (орто-нітрофеніл-β-галактопіранозу), ескулін, цитрат, малонат; **ізолят 6.1** — декстрозу, трегалозу, мелібіозу, маннозу, ОНПГ (орто-нітрофеніл-β-галактопіраноза), ескулін, цитрат, малонат; **ізолят 9.5** — ОНПГ (орто-нітрофеніл-β-галактопіранозу), ескулін, цитрат та малонат.

ЛІТЕРАТУРА

1. Kalac P.A. Review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2013;93(2): P. 209—218. doi: 10.1002/jsfa.5960.
2. Іванова Т.В. Біотехнологія їстівних грибів. *Компринт*. 2018 (2). 165 с.
3. Sanguinetti M. Edible Mushrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life. *International Journal of Microbiology*. 2015; ID 376387, 14 p. doi: 10.1155/2015/376387.
4. Pereira, I.V., Ivanova, T.V. Stimulation of growth of species of the fungus of the genus *Pleurotus* (Fr.) P. Kumm. at a glucose nutrition. *Biotechnologia Acta*. 2017, 10(6). P. 45—52. doi: org/10.15407/biotech10.06.045
5. Пати́ка В.П., Пасі́чник Л.А., Данкевич Л.А. Діагностика фітопатогенних бактерій: Методичні рекомендації. Київ, 2014. 57 с.
6. Ivanova, T.V. et al. New approaches extraction of viral RNA from edible mushrooms. *Scientific Journal «ScienceRise»*, 2015,1 (15), P. 44—46.
7. Радченко О.С. Фізіолого-біохімічні властивості мікроорганізмів та методи їх визначення: Навчальний посібник. ТОВ «Аграр Медіа Груп», 2012. 211 с.
8. Пати́ка В.П., Пасі́чник Л.А., Гвоздяк Р.І., Петриченко В.Ф., Корнійчук О.В., Калініченко А.В., Буценко Л.М., Житкевич Н.В. Фітопатогенні бактерії. Методи досліджень. ТОВ Віндрук, 2017. 432 с.
9. Гадзало Я.М., Пати́ка М.В., Заришняк А.С. Агробіологія ризосфери рослин. *Аграрна наука*, 2015. 368 с.
10. Пати́ка Н.В., Колодяжний А.Ю., Іба-туллін І.І. Оцінка метабеному та виявлення функціонально значущих поліморфізмів прокаріотів ґрунту методом піросеквенування. *Мікробіологічний журнал*. 2016, 78 (2): С. 43—51.
11. Пати́ка Т.І., Пати́ка М.В., Пати́ка В.П. Філогенетичні взаємозв'язки між серологічними варіантами *Bacillus thuringiensis*. *Біополімери та клітини*. 2009. 25 (3): С. 240—244.
12. Орлова О.В., Воробйова Н.І., Свиридова О.В., Андронов Е.Є., Колодяжний А.Ю., Москалевська Ю.П., Пати́ка М.В. Склад та функціонування мікробних угруповань при розкладанні соломи злаків у дерново-підзолистому ґрунті. *Сільськогосподарська біологія*. 2015, 50 (3). С. 305—314.
13. Пати́ка М.В., Круглов Ю.В., Бердніков А.М., Пати́ка В.Ф. Роль *Linum usitatissimum* L. у формуванні мікробних угруповань підзолистих ґрунтів. *Мікробіологічний журнал*. 2008. 70 (1). С. 59—70.

¹Іванова Т.В., ²Патика Н.В.,
³Тарасюк Т.В.

Національний університет біоресурсів і природопольовання України,
ул Героев Оборони, 15, г. Київ, 03041,
Україна, e-mail: ³tivanova1@ukr.net

Функциональные особенности трофического использования источников углерода патогенными бактериями шампиньонов (*Agaricus bisporus*)

Цель. Изучить функциональные особенности патогенных бактерий, выделенных из *Agaricus bisporus*, в зависимости от источников углеродного питания. **Методы.** Предметом исследования послужили 16 изолятов патогенных бактерий, выделенных из *Agaricus bisporus*. Они проявлялись как первичные инфекции на стадии активного роста гриба и являются типичными только для шампиньонов. В работе использовали биотехнологические методы исследований. Для идентификации выделенных культур микроорганизмов проводили посев для расщепления источников углерода на синтетических средах с внесением соответствующих сахаров. С помощью биохимических методов определяли трофические особенности патогенных бактерий с целью разработки биотехнологий по контролю их распространения. Оксидазную активность бактерий определяли по методу Ковача на мембранном фильтре, предварительно смоченном NN-диметил-п-фенилен-диамин сульфатом. Каталазную активность определяли, добавляя к капле культуры раствор перекиси водорода 10%. Использовали инновационный и универсальный метод определения источников углеродного питания микроорганизмов — KB009 TM HiCarbo Kit. **Результаты.** Определили источники углеродного питания патогенных бактерий с помощью тест-системы. Изолят 9.4 утилизирует сахара: ксилоза, декстроза, галактоза, меллибиози L-арабиноза, манноза, ОНПГ (орто-нитрофенил-β-галактопираноза), эскулин, цитрат, малонат. Изолят 6.2 при тестировании показал положительный результат на ксилозу, декстрозу. Изолят 6.1 использует сахара — декстроза, трегалоза, меллибиози, манноза. Изолят 9.5 показал присутствие ОНПГ, эскулина, цитрата и малоната, отсутствие каталазы. Положительную реакцию на оксидазу имеют изоляты 11.1 и 9.5. Слабую реакцию имели изоляты 6.2 и 13.2. Реакция на расщепление углеводов показала, что все изоляты имели окислительный тип метаболизма.

Выводы. Изучены биохимические свойства реакции на расщепление углеводов в синтетической среде, оксидазная активность бактерий по методу Ковача, каталазная активность и источники углеродного питания патогенных бактерий, выделенных из плодовых тел *Agaricus bisporus*.

Agaricus bisporus, патогены, изолят, источники углерода, ферментативная активность

¹Ivanova T., ²Patyka M.,
³Tarasjuk T.
National University of Life and
Environmental Sciences of Ukraine, 15,
Heroiv Oborony Str. building 3, Kyiv,
Ukraine, 03041, e-mail: ³tivanova1@ukr.net

Functional features of trophic use of carbon sources by pathogenic champignon bacteria (*Agaricus bisporus*)

Goal. Purpose. The study of the functional features of pathogenic bacteria, which are isolated from *Agaricus bisporus*. **Methods.** The subject of the study is 16 isolates of pathogenic bacteria, which are isolated from *Agaricus bisporus*. They manifested as primary infections at the stage of active growth of the fungus. They are typically only for mushrooms. We used biotechnological methods. We isolated cultures of microorganisms to identify, sowing was carried out for splitting carbon sources on synthetic nutrient media with the adding of appropriate sugars. Using biochemical methods, trophic features of pathogenic bacteria were determined in order to develop biotechnologies for controlling their spread. The oxidase activity of bacteria was determined by the method of Kovach on a membrane filter previously moistened with NN-dimethyl-p-pheniline diamine sulfate. Catalase activity was determined by adding to the culture drop a 10% solution of hydrogen peroxide. We used an innovative and universal method for determining the sources of carbon nutrition of microorganisms — KB009 TM HiCarbo Kit. **Results.** We have identified the sources of carbon nutrition of pathogenic bacteria using a test system. Isolate 9.4 utilizes sugars such as xylose, dextrose, galactose, melibiose L-arabinose, mannose, ONPG (ortho-nitrophenyl-β-galactopyranose), esculin, citrate, malonate. Isolate 6.2 when tested showed a positive result for xylose, dextrose. Isolate 6.1 uses such sugars: dextrose, trehalose, melibiose, mannose. Isolate 9.5 is indicated by the presence of ONPG, esculin, citrate and malonate and the absence of catalase. Isolates 11.1 and 9.5 have a positive oxidase reaction. Isolates 6.2 and 13.2 had a weak reaction. The reaction to the breakdown of carbohydrates showed that all isolates had an oxidative type of metabolism. **Conclusions.** The biochemical properties of the reaction to the breakdown of carbohydrates in a synthetic nutrient media, the oxidase activity of bacteria by the Kovac method, the catalase activity and carbon nutrition sources of pathogenic bacteria isolated from the fruit bodies of *Agaricus bisporus* were studied.

Agaricus bisporus, pathogens, isolate, carbon sources, enzymatic activity

Рецензент:

О.Л. Кляченко,
доктор сільськогосподарських наук
Національний університет біоресурсів
і природокористування України
Надійшла 05.08.2019 р.