

**МИНСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**  
**БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**  
**БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**  
**Кафедра молекулярной биологии**

Аннотация к дипломной работе

**ЩЕВАНЬКОВА**  
Ольга Анатольевна

**ХАРАКТЕРИСТИКА ФИТОПАТОГЕННЫХ**  
**ШТАММОВ *VACILLUS PUMILUS* ИЗ РАЗЛИЧНЫХ**  
**ИСТОЧНИКОВ**

Научный руководитель:  
д.б.н., профессор  
А.Н.Евтушенков

Минск, 2025

## РЕФЕРАТ

Дипломная работа 46 с., 12 рис., 8 табл., 18 источников.

**Ключевые слова:** *Bacillus pumilus*, фитопатогенные бактерии, факторы вирулентности, мацерация тканей, удельная скорость роста, целлюлазная активность,  $\beta$ -ксиланаза,  $\beta$ -глюкозидаза, картофель, береза.

**Объект исследования:** Штаммы *Bacillus pumilus*, выделенные из различных источников: мягких гнилей овощей (морковь, капуста, картофель) и тканей березы.

**Цель:** Характеристика факторов вирулентности штаммов *B. pumilus* путем оценки их способности вызывать мацерацию тканей клубней картофеля, измерения активности ключевых гидролитических ферментов (эндоглюконазы,  $\beta$ -глюкозидазы,  $\beta$ -ксиланазы) в мацерированных тканях и изучения кинетики роста на различных питательных средах.

**Материалы и методы:** Заражение стерильных срезов клубней картофеля суспензиями штаммов ( $10^8$  КОЕ/мл), инкубация при 28°C в течение 48 часов, взвешивание мацерированной массы. Приготовление ферментных экстрактов из мацерированной ткани. Измерение активности эндоглюконазы (целлюлазы),  $\beta$ -ксиланазы и  $\beta$ -глюкозидазы. Мониторинг оптической плотности (OD) культур штаммов на разных средах с помощью спектрофотометра PV 1251A. Расчет удельной скорости роста ( $\mu$ ) в экспоненциальной фазе.

Штаммы *B. pumilus*, выделенные из березы, продемонстрировали статистически значимо более высокую мацерирующую активность на клубнях картофеля по сравнению со штаммами из овощных гнилей ( $p \leq 0.001$ ).

Активность исследованных гидролитических ферментов (эндоглюконазы,  $\beta$ -глюкозидазы,  $\beta$ -ксиланазы) в мацерированных тканях \*не коррелировала\* с интенсивностью мацерации. Активность этих ферментов у штаммов из березы была сопоставима или ниже, чем у штаммов из овощей.

Штамм B22 (береза) показал уникальную адаптивность:

На среде с NaCl: сокращение лаг-фазы на 57% (с 7 до 3 часов), но снижение максимальной биомассы на 12.5% ( $\mu = 0.227 \text{ ч}^{-1}$  vs  $0.282 \text{ ч}^{-1}$  без NaCl).

Высокая эффективность роста на картофельном (макс. OD=1.937,  $\mu=0.181 \text{ ч}^{-1}$ ) и морковном бульонах.

## РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 46 с., 12 мал., 8 табл., 18 крыніц.

**Ключавыя словы:** *Bacillus pumilus*, фітапатагенныя бактэрыі, фактары вірулентнасці, мацэрацыя тканін, удзельная хуткасць росту, цэлюлазная актыўнасць,  $\beta$ -ксіланаза,  $\beta$ -глюкозідаза, бульба, бяроза.

**Аб'ект даследавання:** Штамы *Bacillus pumilus*, вылучаныя з розных крыніц: мяккіх гнілі гародніны (морква, капуста, бульба) і тканін бярозы.

**Мэта даследвання:** Характарыстыка фактараў вірулентнасці штамаў *B. pumilus* шляхам ацэнкі іх здольнасці выклікаць мацэрацыю тканін клубняў бульбы, вымярэння актыўнасці ключавых гідралітычных ферментаў (эндоглюконазы,  $\beta$ -глюкозідазы,  $\beta$ -ксіланызы) у мацерыраваных тканінах і вывучэння кінетыкі росту.

**Матэрыялы і метады:** Заражэнне стэрыльных зрэзаў клубняў бульбы завісямі штамаў ( $10^8$  СЄЕ/мл), інкубацыя пры  $28^\circ\text{C}$  на працягу 48 гадзін, узважванне мацэраваных масы. Прыгатаванне ферментных экстрактаў з мацерыраванай тканіны. Вымярэнне актыўнасці эндоглюконазы (цэлюлазы),  $\beta$ -ксіланызы і  $\beta$ -глюкозідазы. Маніторынг аптычнай шчыльнасці (OD) культур штамаў на розных асяроддзях (з NaCl, без NaCl, LB-булён, маркоўны булён, бульбяны булён) з дапамогай спектрафатометра PV 1251A. Разлік удзельнай хуткасці росту ( $\mu$ ) у экспанентнай фазе.

Штамы *B. pumilus*, выдзеленыя з бярозы, прадэманстравалі статыстычна значна больш высокую мацерыруючую актыўнасць на клубнях бульбы ў параўнанні са штамамі з агароднінных гнілі ( $p \leq 0.001$ ).

Актыўнасць даследаваных гідралітычных ферментаў (эндоглюконазы,  $\beta$ -глюкозідазы,  $\beta$ -ксіланызы) у мацерыраваных тканінах \* не карэлявалі \* з інтэнсіўнасцю мацэрацыі. Актыўнасць гэтых ферментаў у штамаў з бярозы была супастаўная ці ніжэй, чым у штамаў з гародніны.

Штам B22 (бяроза) паказаў унікальную адаптыўнасць:

На асяроддзі з NaCl: скарачэнне лаг-фазы на 57% (з 7 да 3 гадзін), але зніжэнне максімальнай біямасы на 12.5% ( $\mu = 0.227\text{ ч}^{-1}$  vs  $0.282\text{ ч}^{-1}$  без NaCl).

На раслінных субстратах: Высокая эфектыўнасць росту на бульбяным (макс. OD = 1.937,  $\mu = 0.181\text{ г}^{-1}$ ) і маркоўным булёнах.

олаў.

## ABSTRACT

Diploma project 46 p., 12 figures, 8 tables, 18 sources.

**Keywords:** *Bacillus pumilus*, phytopathogenic bacteria, virulence factors, tissue maceration, specific growth rate, cellulase activity,  $\beta$ -xylanase,  $\beta$ -glucosidase, potato, birch.

**Object of the research:** *Bacillus pumilus* strains isolated from various sources: soft rots of vegetables (carrots, cabbage, potatoes) and birch tissues (strains B9, B13, B14, B15, B22).

**The aim of the research:** Characterization of virulence factors of *B. pumilus* strains by assessing their ability to cause maceration of potato tuber tissues, measuring the activity of key hydrolytic enzymes (endoglucanase,  $\beta$ -glucosidase,  $\beta$ -xylanase) in macerated tissues and studying growth kinetics on various nutrient media.

**Materials and methods:** Inoculation of sterile potato tuber sections with strain suspensions ( $10^8$  CFU/ml), incubation at 28°C for 48 hours, weighing the macerated mass. Preparation of enzyme extracts from macerated tissue. Measurement of endoglucanase (cellulase),  $\beta$ -xylanase and  $\beta$ -glucosidase activities. Monitoring the optical density (OD) of strain cultures on different media (with NaCl, without NaCl, LB broth, carrot broth, potato broth) using a PV 1251A spectrophotometer. Calculation of the specific growth rate ( $\mu$ ) in the exponential phase.

**Methods:** The study included inoculation of sterile potato tuber sections with strain suspensions ( $10^8$  CFU/ml), incubation at 28°C for 48 hours, weighing the macerated mass. We also analyzed the enzymatic activity and studied the growth of bacteria as a result of which *B. pumilus* strains isolated from birch (especially B22) demonstrated statistically significantly higher macerating activity on potato tubers compared to strains from vegetable rots ( $p \leq 0.001$ ).

The activity of the studied hydrolytic enzymes (endoglucanase,  $\beta$ -glucosidase,  $\beta$ -xylanase) in macerated tissues did not correlate with the intensity of maceration. The activity of these enzymes in birch strains was comparable or lower than in vegetable strains. Strain B22 (birch) demonstrated unique adaptability:

On a medium with NaCl: a 57% reduction in the lag phase (from 7 to 3 hours), but a 12.5% decrease in maximum biomass ( $\mu = 0.227 \text{ h}^{-1}$  vs  $0.282 \text{ h}^{-1}$  without NaCl).

On plant substrates: High growth efficiency on potato (max. OD=1.937,  $\mu=0.181 \text{ h}^{-1}$ ) and carrot broths.

On LB medium: High growth rate ( $\mu$  up to  $0.174 \text{ h}^{-1}$ ), but sensitivity to medium quality (lysis was observed).