

## Оригинальная статья / Original article

<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2025-3-70-76>  
УДК: 635.64:631.544:632.4

Э.М. Гайсина<sup>1</sup>, Э.М. Очирова<sup>1</sup>, Д.А. Никитинский<sup>2</sup>,  
Е.В. Никитинская<sup>2</sup>, О.Ю. Словарева<sup>2</sup>, А.Н. Игнатов<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» (РУДН) 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

<sup>2</sup> ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ВНИИКР) 140150, Московская область, г. Раменский, р.п. Быково

\*Автор для переписки: [ignatov\\_an@pfur.ru](mailto:ignatov_an@pfur.ru)

При поддержке: Минобрнауки России (проект FSSF-2024-0063).

**Вклад авторов:** Гайсина Э.М.: подготовка рукописи, анализ результатов; Очирова Э.М.: выполнение исследования; Никитинский Д.А.: выполнение исследования, анализ результатов; Никитинская Е.В.: выполнение исследования; Словарева О.Ю.: анализ результатов; Игнатов А.Н.: научное руководство исследованием.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Гайсина Э.М., Очирова Э.М., Никитинский Д.А., Никитинская Е.В., Словарева О.Ю., Игнатов А.Н. Оценка встречаемости условно-патогенных бактерий в пасленовых растениях в защищенном грунте методом секвенирования нового поколения (NGS). *Овощи России*. 2025;(3):70-76. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2025-3-70-76>

Поступила в редакцию: 18.04.2025

Принята к печати: 28.04.2025

Опубликована: 07.07.2025

Elvira M. Gaisina<sup>1</sup>, Evelina M. Ochirova<sup>1</sup>,  
Denis A. Nikitinsky<sup>2</sup>, Ekaterina V. Nikitinskaya<sup>2</sup>,  
Olga Y. Slovaeva<sup>2</sup>, Alexander N. Ignatov<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba (RUDN University) Miklukho-Maklaya St., 6, 17198, Moscow, Russia

<sup>2</sup> All-Russian Plant Quarantine Center (VNIICR) 140150, Moscow reg. Bykovo, Russia

\*Correspondence Author: [ignatov-an@pfur.ru](mailto:ignatov-an@pfur.ru)

**Funding.** Ministry of Science and Education of Russia (project FSSF-2024-0063)

**Authors' Contribution:** Gaisina E.M. was responsible for the preparation of the manuscript and analysis of the results; Ochirova E.M. carried out the research; Nikitinsky D.A. executed the research and analyzed the results; Nikitinskaya E.V. carried out the research; Slovaeva O.Yu. analyzed the results; Ignatov A.N. provided scientific management for the research.

**Conflict of interest.** The authors declare that there are no conflicts of interest.

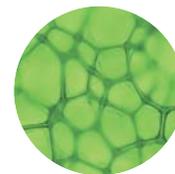
**For citation:** Gaisina E.M., Ochirova E.M., Nikitinsky D.A., Nikitinskaya E.V., Slovaeva O.Y., Ignatov A.N. Opportunistic bacteria in greenhouse Solanaceous plants – assessment by new generation sequencing methods. *Vegetable crops of Russia*. 2025;(3):70-76. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2025-3-70-76>

Received: 18.04.2025

Accepted for publication: 28.04.2025

Published: 07.07.2025

# Оценка встречаемости условно-патогенных бактерий в пасленовых растениях в защищенном грунте методом секвенирования нового поколения (NGS)



## РЕЗЮМЕ

**Актуальность.** В последние годы отмечается резкий рост числа случаев заболеваний человека и животных, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами. Сельскохозяйственные растения служат одним из естественных резервуаров таких патогенов. Механизмы поражения растений схожи с механизмами патогенности бактерий человека и животных. По мере изучения экологии патогенных бактерий, были получены данные, однозначно показывающие возможность их длительного выживания и размножения, без признаков потери признаков вирулентности к организму основного хозяина.

**Методология.** Образцы растений томата и картофеля (39 шт.) были получены из 12 тепличных комбинатов и селекционных теплиц Московской области. Геномную ДНК и РНК выделяли с использованием соответствующих наборов. Для амплификации гипервариабельного V3-V4 участка гена 16S рибосомальной РНК использовали стандартные праймеры. Секвенирование проводили на платформе Illumina. Полученные данные секвенирования обрабатывались программой, написанной с использованием алгоритма QIIME 1.9.1. Был использован алгоритм классификации операционных таксономических единиц (ОТЕ) с открытым референсом (Open-reference OTU), порог отсека при классификации - 97%.

**Результаты.** В данной работе мы рассматриваем экспериментальные подтверждения латентного выживания условно-патогенных бактерий, используя как анализ метагенома бактериального сообщества на растениях в защищенном грунте и анализ популяции бактериофагов, что применяется в качестве индикатора присутствия целевых видов в окружающей среде.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

эндофитные бактерии, секвенирование нового поколения, метагеном, томаты, картофель

## Opportunistic bacteria in greenhouse Solanaceous plants – assessment by new generation sequencing methods

### ABSTRACT

**Relevance.** In recent years, there has been an alarming increase in the number of human and animal disease cases caused by opportunistic microorganisms. These pathogens are often found in agricultural plants, which serve as natural reservoirs for them. The mechanisms of plant damage caused by these pathogens are similar to those of human and animal pathogenic bacteria. As the ecology of these pathogenic bacteria has been studied, data has been obtained that clearly shows the possibility of their long-term survival and reproduction in plants, without any signs of loss of their virulence towards the main host organism.

**Methodology.** Tomato and potato plant samples (39 in total) were collected from 12 different greenhouses in the Moscow region. Genomic DNA and RNA were isolated using appropriate kits. Standard primers were used to amplify the hypervariable V3-V4 region of the 16S ribosomal RNA gene. Sequencing was performed on the Illumina platform. The obtained sequencing data was processed by a program written using the QIIME 1.9.1 algorithm. An open-reference Opec classification algorithm (OTU) was used, with a classification threshold of 97%.

**Results.** In this paper, we consider experimental evidence for the latent survival of opportunistic bacteria using both metagenome analysis of the bacterial community on protected plants and bacteriophage population analysis, which is used as an indicator of the presence of target species in the environment.

### KEYWORDS:

endophytic bacteria, next-generation sequencing, metagenome, tomatoes, potato

## Введение

Эндофитные бактерии в растениях потенциально могут способствовать росту растений, улучшать азотное питание, но, в некоторых случаях, являются патогенами для человека. Недавние исследования, убедительно показали, что условно-патогенные энтеробактерии являются частью обычной микробиоты растений [1]. Степень эндофитной колонизации бактериальными штаммами регулируется защитными свойствами растений, и в последние годы было идентифицировано много генетических детерминант, необходимых для такой колонизации, причем, близких к генам, важным для патогенеза на основных хозяевах этих бактерий. Способность бактерий различных таксонов поражать как растения, так и животные была давно отмечена для *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* и *Erwinia* sp. [2, 16], и была предметом многочисленных исследований, рассмотренных в ряде подробных обзоров [4, 9].

Обширная группа гамма-протеобактерий Enterobacteriaceae, генетически близких к *Escherichia coli*, включает в себя как типичных патогенов человека и животных (виды родов *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*), так и патогенов растений (*Erwinia*, *Pectobacterium*, *Pantoea*). Патогенные энтеробактерии, включая *Salmonella enterica* и *Escherichia coli* O157:H7, длительное время выживают на поверхности растений [6, 8].

Из растительных тканей неоднократно выделяли такие виды, как *Klebsiella pneumoniae* [12], *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* [21], *Serratia marcescens* [10], *Burkholderia cepacia* [16], других бактерий семейства Enterobacteriaceae, обладающих потенциальной вирулентностью для животных и устойчивостью к широкому кругу антибиотиков [1]. Патогенные энтеробактерии в значительном числе выделяли из листьев салата (от 400 до 9000 КОЕ/г) [8] проростков редиса, моркови, люцерны, бобов, и молодого картофеля [13], используемых в качестве салатов, не подвергаемых термической обработке.

Потенциальными источниками бактерий в растениях являются ирригационные воды, почва, насекомые и нематоды – вредители, и главный источник – животные и человек [9, 20].

Очевидно, что механизмы бактериального симбиоза/патогенеза для животных и растений в обоих случаях должны иметь немало общих черт как со стороны патогена, так и хозяина. Но, несмотря на значительные достижения в идентификации общих факторов вирулентности для животных и растений у *Pseudomonas aeruginosa* [20, 22], остаются сомнения в том, является ли эта многохозяинность частью обычного биологического цикла патогенов, или развитием при особых условиях среды и отсутствии эффективной защитной реакции неспецифического хозяина - т.н. оппортунистический патогенез.

По мере изучения экологии патогенных бактерий, были получены данные, однозначно показывающие возможность их выживания и размножения в альтернативной экологической нише в течение длительного времени без потери вирулентности для первоначального хозяина-животного [4]. Кроме всего прочего, патогенные бактерии, находящиеся как эндосимбионты в фитопатогенных грибах, играют важную роль в вирулентности последних,

выделяя фитотоксины [20]. Видимо, альтернативное существование патогенных бактерий не имеет принципиального значения для их жизненного цикла и эволюции.

В то же время, неспециализированные фитопатогены *Pectobacterium carotovorum* и *Pantoea agglomerans*, *Burkholderia* sp., *Ralstonia* sp. вызывают различные поражения внутренних органов при травмах и сниженном иммунитете животных и человека [7]. Размножение фитопатогенов происходит во взаимодействии с простейшими (*Erwinia* sp.), внутри насекомых (*Erwinia chrisantemi*=*Dickeya dadantii*), нематод (*Rathayibacter tritici*, *Rathayibacter* spp.) и других животных, а патогены человека и животных регулярно обнаруживают как эпифитные, эндофитные, ризосферные или паразитические (фитопатогенные) бактерии растений и водорослей [6].

Очевидно, что обладание общими механизмами патогенеза и симбиоза [20, 22] позволяет бактериям сосуществовать и паразитировать на разных одноклеточных и многоклеточных растениях и животных. Однако, несмотря на достижения в изучении генетики вирулентности этих патогенов, остается открытым вопрос, является ли их способность заражать различные организмы неотъемлемой частью биологии патогена, или же результатом адаптации в связи с недостаточной степенью устойчивости нетипичного хозяина.

Исследования показывают, что данные бактерии могут длительное время существовать и размножаться при изменении условий окружающей среды в качестве сапрофитов или даже фитопатогенов, не теряя при этом своей патогенности для исходного хозяина [14]. По-видимому, сапрофитная фаза жизни не играет значительной роли в эволюции и жизненном цикле условно-патогенных/патогенных бактерий. Сравнительная простота изучения взаимодействия растений с условно-патогенными бактериями делает их удобной моделью для исследования инфекционных процессов у животных и человека, а также позволяет осуществлять поиск новых методов борьбы с бактериальными инфекциями [17, 18].

Целью данного исследования является анализ применения NGS для изучения микробиома пасленовых растений, выращенных в теплицах на территории РФ. Томат (*Solanum lycopersicum* L.) и картофель (*S. tuberosum* L.) принадлежат к роду, который включает такие продовольственные культуры, как картофель, томат, перец, физалис и баклажан. Благодаря быстрому росту пасленовые растения часто используются в качестве модельного объекта при изучении физиологии и биохимии растений. В данной работе был проведен анализ метагенома бактериальных сообществ растений томатов и семенного картофеля, выращиваемых в гидропонной культуре, а также анализ популяций бактериофагов, ассоциированных с патогенами. Бактериофаги все чаще используются в качестве индикаторов присутствия исследуемых видов бактерий в пробах, взятых из окружающей среды [11].

Методы секвенирования нового поколения (NGS) успешно применяются для оценки разнообразия микробиомов различных растений. Эти технологии позволяют не только обнаруживать и количественно оценивать клинически значимые бактерии, но и выявлять скрытые патогены, взаимодействующие с другими организмами в сложных инфекционных процессах.

### Материалы и методы

Образцы растений томата и картофеля (39 шт.) были получены из 12 тепличных комбинатов, выращивающих томат, и селекционных теплиц Московской области, использующих гидропонную технологию выращивания семенных клубней картофеля в течение вегетационных сезонов 2023–24 гг. Образцы были получены в рамках рутинного мониторинга фитосанитарной ситуации в теплицах, в соответствии с плановым проведением анализа присутствия возбудителей болезней растений, доставлены и подготовлены для анализа в соответствии с лабораторным регламентом лаборатории ВНИИКР.

#### Методы выделения ДНК и РНК и синтез библиотек для секвенирования

ДНК выделяли с использованием набора QIAamp DNA Microbiome Kit (QIAGEN, США) [23] в соответствии с рекомендациями производителя. РНК выделяли с использованием набора QIAamp Viral Kit (QIAGEN, США) [24] в соответствии с рекомендациями производителя QIAamp. Выделение происходит колоночным методом с использованием микроцентрифуги. Для ПЦР-амплификации области V3-V4 гена 16S рРНК использовали мастер-смесь для Taq полимеразы [25] и специфические праймеры 16sF и 16sR [21]. В реакции использовали 40 нг тотальной ДНК и 10 мкм каждого праймера, при этом условия ПЦР включали начальную денатурацию при температуре 95°C, за которой следуют 25 циклов при температуре 95°C в течение 15 секунд, 60°C в течение 15 секунд и 72°C в течение 2 минут, завершающихся досинтезом при температуре 72°C в течение 10 минут. Синтез кДНК на матрице выделенной РНК осуществлялся с помощью набора реактивов Mint (Евроген, Россия) [26] в соответствии с рекомендациями производителя с использованием Random праймера (dN)10 (Евроген, Россия).

Синтез библиотек для секвенирования осуществлялся по стандартной методике [27], с применением КАРА HyperPlus Kit (F. Hoffmann-La Roche Ltd, Швейцария), с адаптацией по рекомендации производителя Illumina (Illumina, Inc., США) [28].

#### Секвенирование

Для секвенирования на платформе Illumina полученные библиотеки смешивались между собой и доводились до общей концентрации 2нМ. Анализ библиотек проводился на секвенаторе нового поколения Illumina методом парно-концевого чтения генерацией не менее 500 000 парных прочтений на каждый образец с использованием следующих реактивов: MiSeq Reagent Kit v3 (Illumina, Inc., США) [28].

#### Обработка данных

Полученные «сырые» данные секвенирования собирались в контиги с применением программы SPAdes [3]. Качество полученных контигов анализировали программой Qiime [5]. Дальнейшее рас-

пределение последовательностей по таксономическим единицам – с использованием алгоритма KRAKEN [21]. Отдельные образцы верифицировались сравнением с базой данных NCBI при помощи программы BLAST [29].

### Результаты и обсуждение

Метагеномный анализ бактериальной популяции в растениях

Для того, чтобы оценить встречаемость условно-патогенных бактерий в пробах растений, полученные из 12 тепличных комбинатов, полученные данные (всего 39 образцов) были сведены в табл. 1.

В результате метагеномного анализа 16S рРНК было выявлено до 1650 отдельных таксономических единиц (ОТЕ), с индексом энтропии Шеннона от 5,8 до 8,9, что демонстрирует высокое генетическое разнообразие популяций. Количество ОТЕ для образцов томата было существенно выше (различия достоверны на 95% уровне вероятности), чем для картофеля, но это может быть вызвано большим числом образцов и сортов томата, по сравнению с картофелем. Индекс Шеннона имеет максимальное значение, когда имеет место полная выравненность распределения видов, что соответствует наибольшему разнообразию системы, а минимальное значение равно 0 (отсутствие разнообразия).

Наиболее распространёнными видами в изученных растениях были *Mycobacterium canettii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pasteurella multocida subsp. multocida* и *Pseudomonas putida*.

Частота прочтений последовательностей 16S рРНК, определенных как *Mycobacterium canettii*, составляла от 3,4 до 10,3%. Ранее, Loukil A. с коллегами [15], нашли, что естественная ниша обитания *M. canettii* связана с растениями, синтезирующим рамнозу. Рамноза (6-дезоксиманноза), дезоксисахарид из группы альдогексоз с общей формулой C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>, является одним из углеводных компонентов внешней мембраны бактерий рода *Mycobacterium*, которые включает в себя возбудителей туберкулёза. В пасленовых растениях рамноза входит в состав гликоалкалоидов, в частности соланина и томатина [31]. Loukil A. и др. полагают, что распространение *M. canettii* в Африке и Азии связано с распространённой практикой употребления алкалоид-содержащего растения *Catha edulis* (Кат съедобный) [15].

Давно отмечено присутствие в растениях других обнаруженных нами видов, в частности *Klebsiella pneumoniae* [12], *Escherichia coli* [1, 6, 8], *Proteus mirabilis*, *Pasteurella multocida subsp. multocida* [1, 12, 13] и *Pseudomonas putida* [2, 16].

#### Анализ РНК и бактериофагов

Данные о бактериофагах, выделенных из 39 образцов растений из 12 тепличных комплексов, представлены в табл. 2.

Наиболее часто встречались бактериофаги, поражающие энтеробактерии. В частности, *Salmonella phage TS13* был обнаружен с частотой от 3.1 до 36%,

Таблица 1. Частота встречаемости условно-патогенных и схожих бактериальных видов на пасленовых растениях, выращиваемых в тепличных комплексах  
 Table 1. Frequency of occurrence of opportunistic and similar bacterial species on solanaceous plants in greenhouses

Номера образцов растений*	Частота встречаемости, %		Вид бактерий (только для видов, определенных до уровня вида или штамма)
	От	До	
1-39	3,40	10,29	<i>Mycobacterium canettii</i>
4, 10-39	0	0,04	<i>Corynebacterium sanguinis</i>
3, 8, 19	0	0,05	<i>Cutibacterium acnes</i>
1, 3, 7	0	0,04	<i>Cutibacterium granulosum</i>
3, 6, 23, 29, 30, 34	0,02	0,08	<i>Cylindrospermum stagnale</i>
1-10, 14-39	0,01	0,09	<i>Cylindrospermum stagnale</i>
1-39	0,02	0,06	<i>Nodularia spumigena</i>
1-39	0,04	0,14	<i>Oxynema aestuarii</i>
2, 7-19, 30-39	0,01	0,05	<i>Bacillus mycoides</i>
34-36	0,04	0,04	<i>Bacillus atrophaeus</i>
32-38	0	0,05	<i>Gracilibacillus salitolerans</i>
1-39	0,04	0,24	<i>Staphylococcus cohnii</i>
35-39	0,04	0,05	<i>Listeria ivanovii</i>
13, 27	0,04	0,06	<i>Weissella koreensis</i>
23, 25, 29	0,04	0,07	<i>Limosilactobacillus reuteri</i>
30	0,04	0,04	<i>Fructilactobacillus lindneri</i>
30-34	0,04	0,09	<i>Jeotgalibaca ciconiae</i>
30-39	0,01	0,04	<i>Natranaerobius thermophilus</i>
28-34	0,02	0,04	<i>Metamycoplasma cloacale</i>
1-39	0,1	0,90	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
1-39	0,04	0,24	<i>Escherichia coli</i>
36-39	0,04	0,04	<i>Candidatus Blochmannia vicinus</i>
1-39	0,08	0,18	<i>Proteus mirabilis</i>
1-39	0,04	0,1	<i>Providencia rettgeri</i>
1-39	0,4	0,69	<i>Pasteurella multocida</i> subsp. <i>multocida</i>
10-29	0,04	0,07	<i>Vibrio parvulus</i>
23-29	0,02	0,04	<i>Photobacterium damsela</i>
1-18	0,01	0,04	<i>Methylomonas denitrificans</i>
1-39	0,04	0,14	<i>Pseudomonas putida</i>
1-39	0,04	0,05	<i>Methyloceanibacter caenitepidi</i>
29-32	0	0,04	<i>Candidatus Hodgkinia cicadicola</i>
1-39	0	0,04	<i>Cereibacter sphaeroides</i>
2-12	0	0,04	<i>Nitrosomonas ureae</i>
1-39	0,04	0,1	<i>Burkholderia cenocepacia</i>
1-39	0,04	0,05	<i>Blattabacterium cuenoti</i>
1-39	0,04	0,05	<i>Cyclobacterium marinum</i>
1-39	0,01	0,04	<i>Algoriphagus sanaruensis</i>
1-12	0,01	0,04	<i>Cetobacterium somerae</i>
2, 5, 6	0,01	0,04	<i>Paludibaculum fermentans</i>
1-12	0,01	0,04	<i>Thermanaerovibrio velox</i>
Среднее	0,13	0,39	
Ст. откл.	0,54	1,62	

\*Образцы 1-25 – томат, образцы 26-39 – картофель.

Таблица 2. Частота встречаемости бактериофагов в пасленовых растениях в теплицах  
Table 2. Frequency of occurrence of bacteriophages in greenhouse solanaceous plants

Номера образцов растений*	Частота встречаемости, %		Бактериофаг
	От	До	
1-39	3,10	36,00	Chivirus iEPS5 (Salmonella phage TS13)
1, 3-7	0,04	0,04	Zhonglingvirus Salmonella phage SAP012
1-39	0,23	0,31	Rosenblumvirus Staphylococcus phage CSA13
1-39	3,75	7,50	Valbivirus Vibrio phage ValB1MD-2
21, 29	0,08	0,08	Haifavirus Prochlorococcus phage P-TIM68
1-8	0,04	0,05	Ahtivirus Synechococcus phage S-ShM2
1, 3, 5	0,04	0,05	Bacillus phage SIOphi
2, 6, 7	0,02	0,04	Siminovitchvirus Bacillus phage CP-51
26-35	0,01	0,04	Teubervirus Lactococcus phage P087
23, 25, 30	0,01	0,04	Sulfitobacter phage phiCB2047-B
27, 34, 37	0,03	0,04	Claudivirus Goe4
12, 23, 25	0,03	0,04	Bacillus phage vB_BthP-Goe4
23, 24, 27	0,01	0,04	Saclayvirus Aci022
2-9	0,01	0,04	Acinetobacter phage vB_AbaM_B09_Aci02-2
3-7	0,03	0,04	Shewanella phage SppYZU05
11, 17, 23-29	0,03	0,04	Pseudomonas phage Lana
1-39	0,02	0,06	Lactococcus phage P335
1-39	0,04	0,06	Enterobacteria phage phiP27
1-39	0,04	0,06	Muldoonvirus PS2
1-39	0,04	0,06	Serratia phage PS2
1-39	0,04	0,05	Marienburgvirus JLK2012
1-39	0,04	0,05	Escherichia phage JLK-2012
1-39	0,04	0,05	Stenotrophomonas phage IME13
1-39	0,04	0,05	Stenotrophomonas phage Mendera
1-25	0,21	0,26	Klebsiella phage ST147-VIM1phi7.1
1-39	0,20	0,27	Klebsiella phage 3LV2017
1-25	0,04	0,05	Erwinia phage EtG
1-25	0,03	0,05	Salmonella phage PSP3
1-25	0,02	0,05	Escherichia phage 186
1-25	0,01	0,03	Salmonella phage SEN1
1-25	0,02	0,04	Peduvovirus P2
1-25	0,01	0,04	Escherichia phage Wphi
1-25	0,01	0,04	Escherichia phage vB_EcoM-12474III
1-25	0,01	0,04	Yersinia phage vB_YpM_46
1-39	0,08	0,12	Escherichia phage 500465-1
1-39	0,03	0,04	Klebsiella phage ST437-OXA245phi4.1
26-39	0,02	0,04	Salmonella phage RE2010
26-39	0,01	0,04	Salmonella phage SEN8
26-39	0,02	0,04	Erwinia phage ENT90
26-39	0,02	0,05	Klebsiella phage 4LV2017
26-39	0,02	0,05	Klebsiella phage ST13-OXA48phi12.1
26-39	0,01	0,03	Burkholderia phage phiE202
26-39	0,01	0,03	Haemophilus phage HP2
23, 30	0,06	0,07	Salmonella phage SAP012
1-39	0,08	0,09	Staphylococcus phage CSA13
25-30	0,03	0,06	Staphylococcus phage Andhra
1-39	0,12	0,19	Escherichia phage HK639
1-39	0,04	0,05	Klebsiella phage phiKO2
1-39	0,03	0,05	Cronobacter phage ENT47670
1-39	0,03	0,05	Enterobacteria phage ES18
1-39	0,03	0,05	Salmonella phage vB_SosS_Oslo
1-39	0,02	0,04	Cronobacter phage phiES15
26-39	0,01	0,04	Vibrio phage SIO-2
26-39	0,01	0,04	Croceibacter phage P2559Y
26-39	0,01	0,04	Streptomyces phage mu1/6
26-39	0,01	0,04	Stenotrophomonas phage S1
26-39	0,01	0,05	Psychrobacter phage Psymv2
26-39	0,01	0,06	Nocardia phage NBR1
26-39	0,01	0,06	Brucella phage BiPBO1
1-39	0,30	0,38	Klebsiella phage Marfa
1-39	0,09	0,18	Escherichia phage RCS47
1-39	0,07	0,17	Enterobacteria phage P7
1-39	0,02	0,22	Salmonella phage SJ46
1-39	0,05	0,15	Escherichia phage D6
1-39	0,04	0,24	Shigella phage SfIV
1-39	0,02	0,12	Enterobacteria phage phiP27
1-39	0,02	0,22	Pseudomonas phage 201phi2-1
1-39	0,02	0,12	Salmonella phage ST64B
23, 24, 27	0,01	0,02	Pectobacterium phage ZF40
23, 34	0,01	0,02	Thermus phage phi OH2
1-39	0,07	0,09	Enterobacteria phage phi80
1-39	0,06	0,09	Enterobacteria phage HK225
Среднее	0,13	0,39	
Ст. откл.	0,49	0,57	

\*Образцы 1-25 – томат, образцы 26-39 – картофель.

*Vibrio phage ValB1MD-2* – от 3,75 до 7,5%, что более чем на 2 порядка превосходило встречаемость последовательностей других фагов.

Хорошо известно об ассоциации бактерий рода *Salmonella* с культурными растениями, а *Vibrio* – с водными растениями, также из растительных тканей неоднократно выделяли *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* [22], *Serratia marcescens* [10] и другие бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, обладающие потенциальной вирулентностью для животных. Патогенные энтеробактерии ранее выделяли из листьев салата, проростков редиса, моркови, люцерны, бобов, и молодого картофеля [8, 13], используемых в качестве салатов, не подвергаемых термической обработке. Поэтому, наличие в качестве доминирующей фракции фагов, поражающих энтеробактерии, выглядит логичным и ожидаемым.

Как уже отмечено выше, бактериофаги, ассоциированные с бактериями других таксономических групп, в частности грамположительными видами (*Staphylococcus*, *Bacillus*, *Streptomyces*, etc.) и бета-протеобактериями, встречались значительно реже.

### Заключение

Большее количество последовательностей, принадлежащих видам, считающимся условно-патогенными бактериями и наличие специфичных к ним бактериофагов конечно не может быть принято в качестве доказательства наличия живых и опасных для человека и животных форм в растениях тепличных комбинатов.

Но, многократно подтвержденное другим исследованием [1, 2, 6, 8-10, 12-14, 16, 19, 22], получение подобных результатов указывает на необходимость проведения более подробных исследований с применением как современных и традиционных микробиологических исследований микробиоты тепличных растений.

Определенная проблема возникает из-за факта того, что доступные базы последовательностей, которые были использованы для определения таксономической принадлежности бактерий и бактериофагов содержат множество последовательностей, в которых отсутствует адекватная проверка присвоенного таксономического статуса, или она не доходит до уровня штаммов [16, 17], поэтому требуются другие, более консервативные подтверждающие методы анализа.

Наиболее часто встречающимися в тепличных образцах были образцы, отнесенные по 16S рПНК к виду *Mycobacterium canettii*, а наиболее часто представленными видами бактериофагов - *Salmonella phage TS13* и *Vibrio phage ValB1MD-2*, которые более чем на 1-2 порядка превосходили максимальную встречаемость последовательностей других фагов. Мы можем констатировать факт наличия, распространения и циркуляции условно патогенных бактерий микроорганизмов в пасленовых культурах в условиях закрытого грунта. Таким образом, метод NGS будет полезным этапом анализа материала для выявления среди микробиоты растений не только фитопатогенных [30], но и условно-патогенных бактерий.

### • Литература

1. Маркова Ю.А., Романенко А.С. Выделение условно-патогенных микроорганизмов из растений. *Гигиена и санитария*. 2006;(1):60-62. <https://elibrary.ru/hstbdb>
2. Худоярова Г.Н., Баротов И., Журакулов А.Г. Растения как возможные резервуары патогенных для человека бактерий. *Евразийский журнал медицинских и естественных наук*. 2023;(3):38–41.
3. Bankevich A., et al. SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing. *Journal of Computational Biology*. 2012;5(19):455–477. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
4. Barbaree J.M., et al. Isolation of protozoa from water associated with a legionellosis outbreak and demonstration of intracellular multiplication of *Legionella pneumophila*. *Applied and Environmental Microbiology*. 1986;2(51):422–424. <https://doi.org/10.1128/aem.51.2.422-424.1986>
5. Bolyen E., et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol*. 2019;(37):852–857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
6. Brandl M.T. Fitness of Human Enteric Pathogens on Plants and Implications for Food Safety. *Annual Review of Phytopathology*. 2006;1(44):367–392. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.44.070505.143359>
7. Cruz A.T., Cazacu A.C., Allen C.H. *Pantoea agglomerans*, a Plant Pathogen Causing Human Disease. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007;6(45):1989–1992.
8. Franz E., et al. Quantification of contamination of lettuce by GFP-expressing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Food Microbiology*. 2007;1(24):106–112. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.03.002>
9. Guo X., et al. Survival of *Salmonellae* on and in Tomato Plants from the Time of Inoculation at Flowering and Early Stages of Fruit Development through Fruit Ripening. *Applied and Environmental Microbiology*. 2001;10(67):4760–4764. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.10.4760-4764.2001>
10. Gyaneshwar P., et al. Endophytic Colonization of Rice by a Diazotrophic Strain of *Serratia marcescens*. *Journal of Bacteriology*. 2001;8(183):2634–2645. <https://doi.org/10.1128/jb.183.8.2634-2645.2001>
11. Hussain W., et al. Bacteriophage-based advanced bacterial detection: Concept, mechanisms, and applications. *Biosensors and Bioelectronics*. 2021;(177):112973.
12. Islam M., et al. Fate of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium on Carrots and Radishes Grown in Fields Treated with Contaminated Manure Composts or Irrigation Water. *Applied and Environmental Microbiology*. 2004;4(70):2497–2502. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.2497-2502.2004>
13. Itoh Y., et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 Present in Radish Sprouts. *Applied and Environmental Microbiology*. 1998;4(64):1532–1535. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.4.1532-1535.1998>
14. King C.H., et al. Survival of coliforms and bacterial pathogens within protozoa during chlorination. *Applied and Environmental Microbiology*. 1988;12(54):3023–3033. <https://doi.org/10.1128/aem.54.12.3023-3033.1988>
15. Loukil A., et al. Decrypting the environmental sources of *Mycobacterium*

- canettii by high-throughput biochemical profiling. *PLoS ONE*. 2019;14(9):e0222078. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222078>
16. Parke J.L., Gurian-Sherman D. Diversity of the Burkholderia Cepacia Complex and Implications for Risk Assessment of Biological Control Strains. *Annual review of phytopathology*. 2001;1(39):225–258. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.39.1.225>
17. Parson W., et al. Evaluation of next generation mtGenome sequencing using the Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM). *Forensic Science International: Genetics*. 2013;5(7):543–549. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.06.003>
18. Roossinck M.J., Martin D.P., Roumagnac P. Plant Virus Metagenomics: Advances in Virus Discovery. *Phytopathology*<sup>®</sup>. 2015;6(105):716–727. <https://doi.org/10.1094/phyto-12-14-0356-rvw>
19. Starr M.P., Chatterjee A.K. The Genus Erwinia: Enterobacteria Pathogenic to Plants and Animals. *Annual Review of Microbiology*. 1972;1(26):389–426.
20. Valdivia R.H., Heitman J. Endosymbiosis: The Evil within. *Current Biology*. 2007;11(17):R408–R410. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.04.001>
21. Wood D.E., Salzberg S.L. Kraken: ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments. *Genome Biology*. 2014;3(15):R46. <http://genomebiology.com/2014/15/3/R46>
22. Zinniel D.K., et al. Isolation and Characterization of Endophytic Colonizing Bacteria from Agronomic Crops and Prairie Plants. *Applied and Environmental Microbiology*. 2002;5(68):2198–2208. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.5.2198-2208.2002>
23. QIAGEN. QIAamp DNA Microbiome Kit [Электронный ресурс]. URL: <https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/dna-rna-purification/dna-purification/microbial-dna/qiaamp-dna-microbiome-kit>.
24. QIAGEN. QIAamp Viral RNA Mini Kit [Электронный ресурс]. URL: <https://www.qiagen.com/us/products/diagnostics-and-clinical-research/sample-processing/qiaamp-viral-rna-kits>.
25. New England Biolabs. Taq 2X Master Mix [Электронный ресурс]. URL: <https://www.neb.com/en-us/products/m0270-taq-2x-master-mix>.
26. ЕвроГен. Набор для синтеза кДНК MINT [Электронный ресурс]. URL: <https://evrogen.com/products/Mint/Mint.shtml>.
27. Roche. KAPA HyperPlus Kit [Электронный ресурс]. URL: <https://sequencing.roche.com/us/en/products/group/kapa-hyperplus-kits.html>.
28. Illumina. MiSeq Reagent Kit v3 (600 cycles) [Электронный ресурс]. URL: <https://www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/cluster-gen-sequencing-reagents/miseq-reagent-kit-v3.html>.
29. NCBI. BLAST: Basic Local Alignment Search Tool [Электронный ресурс]. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>.
30. Никитинский Д.А., Никитинская Е.В., Игнатов А.Н. Метагеномный анализ фитопатогенных бактерий в растениях защищенного грунта. Фитосанитария. Карантин растений. 2024;S4-2(20):67.
31. Waugh W.F. Solanin. *Journal of the American Medical Association*. 1906;47(18):1479-82.

#### • References

- Markova Yu.A., Romanenko A.S. Isolation of opportunistic pathogenic microorganisms from plants. *Hygiene and sanitation*. 2006. 1, С. 60-62.
- Khudoyarova G.N., Baratov I., Dzhurakulov A.G. Plants as possible reservoirs of pathogenic bacteria for humans. *EJMNS*. 2023;(3):38–41.
- Nikitinsky D.A., Nikitinskaya E.V., Ignatov A.N. Metagenomic analysis of phytopathogenic bacteria in plants of protected soil. *Phytosanitary. Quarantine of plants*. 2024;S4-2(20):67.

#### Об авторах:

**Эльвира Марсовна Гайсина** – магистрант агробиотехнологического департамента ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», SPIN-код: 6446-2047, <https://orcid.org/0000-0001-5433-4928>, [gaysina-em@rudn.ru](mailto:gaysina-em@rudn.ru)

**Эвелина Мергеновна Очирова** – магистрант агробиотехнологического департамента ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», <https://orcid.org/0009-0009-6414-6125>, [ochirova-em@rudn.ru](mailto:ochirova-em@rudn.ru)

**Денис Александрович Никитинский** – исполняющий обязанности руководителя лаборатории ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений», SPIN-код: 6245-2717, <https://orcid.org/0009-0009-1679-9893>, [denpreffect@yandex.ru](mailto:denpreffect@yandex.ru)

**Екатерина Вадимовна Никитинская** – научный сотрудник лаборатории ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений», SPIN-код: 8233-1331, <https://orcid.org/0009-0002-0991-9841>, [NikitinskajaCat@yandex.ru](mailto:NikitinskajaCat@yandex.ru)

**Ольга Юрьевна Словарева** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник – и.о. начальника научно-методического отдела бактериологии ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений», SPIN-код: 4396-9436, <https://orcid.org/0000-0001-6022-5955>, [slovareva.olga@gmail.com](mailto:slovareva.olga@gmail.com)

**Александр Николаевич Игнатов** – доктор биологических наук, профессор агробиотехнологического департамента ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», SPIN-код: 3324-4985, <https://orcid.org/0000-0003-2948-753X>, [ignatov\\_an@pfur.ru](mailto:ignatov_an@pfur.ru)

#### About the Authors:

**Elvira M. Gaisina** – Master's student in the Department of Agrobiotechnology, SPIN-code: 6446-2047, <https://orcid.org/0000-0001-5433-4928>, [gaysina-em@rudn.ru](mailto:gaysina-em@rudn.ru)

**Evelina M. Ochirova** – Master's student in the Department of Agrobiotechnology, <https://orcid.org/0009-0009-6414-6125>, [ochirova-em@rudn.ru](mailto:ochirova-em@rudn.ru)

**Denis A. Nikitinsky** – Acting Head of the Laboratory, SPIN-code: 6245-2717, <https://orcid.org/0009-0009-1679-9893>, [denpreffect@yandex.ru](mailto:denpreffect@yandex.ru)

**Ekaterina V. Nikitinskaya** – Researcher, Laboratory, SPIN-code: 8233-1331, <https://orcid.org/0009-0002-0991-9841>, [NikitinskajaCat@yandex.ru](mailto:NikitinskajaCat@yandex.ru)

**Olga Y. Slovareva** – Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher – Acting Head of the Scientific and Methodological Department of Bacteriology, SPIN-code: 4396-9436, <https://orcid.org/0000-0001-6022-5955>, [slovareva.olga@gmail.com](mailto:slovareva.olga@gmail.com)

**Alexander N. Ignatov** – Dr. Sci. (Biology), Professor of the Agrobiotechnology Department, SPIN-code: 3324-4985, <https://orcid.org/0000-0003-2948-753X>, [ignatov\\_an@pfur.ru](mailto:ignatov_an@pfur.ru)