

Заключение

Грибы рода *Phellinus* можно использовать для получения биоактивных компонентов. Кроме противоопухолевой активности, отраженной в научной литературе, нами обнаружены противовирусные свойства в отношении вирусов гриппа у видов *Phellinus igniarius* и *Ph. conchatus*. Судя по литературным данным, такие виды, как *Ph. hartigii* (Allesch. et Schnabl) Pat., *Ph. laevigatus* (Fr.) Bourdot et Galzin, *Ph. laricis* (Jacq. ex Pilb.) Pilb., *Ph. lundellii* Niemeld, *Ph. punctatus* (Fr.) Pilb., *Ph. tremulae* (Bondartsev) Bondartsev et P.N. Borisov, встречающиеся в Западной Сибири, являются перспективными для их изучения на наличие различных типов биологической активности.

Библиографический список

1. Денисова Н.П. Лечебные свойства грибов. Этномикологический очерк. – СПб.: Изд-во СПбГМУ, 1998. – 59 с.
 2. Song T.Y., Lin H.C., Yang N.C., Hu M.L. Antiproliferative and antimetastatic effects of the ethanolic extract of *Phellinus igniarius* (Lin.: Fr.) Quelet // J. Ethnopharm. – 2008. – Vol. 115. – No. 1. – P. 50-56.

3. Jeong S.C., Cho S.P., Yang B.K., Jeong Y.T., Ra K.S., Song C.H. Immunomodulating activity of the exopolymer from submerged mycelial culture of *Phellinus pini* // J. Microbiol. Biotechnol. – 2004. – Vol. 14. – No. 1. – P. 15-21.
 4. Hanat S.B., Lee C.W., Jeon Y.J., Hong N.D., Yoo I.D., Yang K.H. et al. The inhibitory effect of polysaccharides isolated from *Phellinus linteus* on tumor growth and metastasis // Immunopharm. – 1999. – Vol. 41. – P. 157-164.
 5. June W.L., Seong J.B., Woo C.B., Jeong M.P., Yong S.K. Antitumor and antioxidant activities of the extracts from fruiting body of *Phellinus linteus* // Mycobiol. – 2006. – Vol. 34. – No. 4. – P. 230-235.
 6. Zhu T. Kim S.H., Chen C.Y. A medicinal mushroom: *Phellinus linteus* // Curr. Med. Chem. – 2008. – Vol. 15. – No. 13. – P. 1330-1335.
 7. Lee J.J., Kwon H.K., Lee D.S., Lee S.W., Lee K.K., Kim K.J., Kim J.L. Mycelial extract of *Phellinus linteus* induces cell death in A549 lung cancer cell and elevation of nitric oxide in raw 264.7 macrophage cells // Mycobiol. – 2006. – Vol. 34. – No. 3. – P. 143-147.



УДК 579.017.8

И.Б. Бороздина

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД
 ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЭПИФИТНОЙ МИКРОФЛОРЫ**

Ключевые слова: питательные среды, эпифитная микрофлора, *Pseudomonas*, *Bacillus*, МПА, ТСЭМ, питательная среда на основе свекольного отвара.

Эпифитные микроорганизмы, в состав которых входят некоторые представители родов *Pseudomonas* и *Bacillus*, на протяжении длительной эволюции приспособлялись питаться выделениями растений. Недостаток питательных веществ на поверхности экологических ниш филлосферы, по мнению учёных, является основным экологическим фактором, обуславливающим развитие эпифитных микроорганизмов [1].

В ходе исследования мы изучали бактерии родов *Pseudomonas* и *Bacillus*, населяющие различные экологические ниши филлосферы (гемисферу, филлоплан, поверхность цветков, спермосферу).

Бактерии родов *Pseudomonas* и *Bacillus* в малых количествах населяют различные экологические ниши филлосферы, а при

массовом обсеменении могут приводить к возникновению бактериозов [2].

Изучение бактерий родов *Pseudomonas* и *Bacillus* при культивировании на искусственных питательных средах вызывает большой интерес микробиологов ввиду их широкого распространения в природе и участия в различных биологических процессах. Они объединяют большое количество как сапрофитных, так и условно патогенных и патогенных видов [2].

В связи с этим актуальными являются работы по поиску новых доступных и экономически оправданных компонентов, использование которых позволит усовершенствовать имеющиеся и разработать новые эффективные питательные среды для культивирования эпифитных микроорганизмов, в состав которых входят некоторые представители родов *Pseudomonas* и *Bacillus*, а также обусловит перспективы получения на их основе высокоэффективных препаратов для борьбы с фитопатогенными микроорганизмами.

Цель исследования – сравнительная характеристика питательных сред на основе тыквенного и свекольного отваров для культивирования эпифитной микрофлоры.

Задачи:

- дать характеристику химического состава питательных сред на основе тыквенного и свекольного отваров для культивирования эпифитной микрофлоры филлосферы (в состав которой входят некоторые представители родов *Pseudomonas* и *Bacillus*), обладающих поликомпонентностью, доступностью ингредиентов и невысокой стоимостью;
- дать сравнительную оценку роста эпифитной микрофлоры на МПА и питательных средах на основе растительного сырья;
- изучить основные культуральные, тинкториальные, морфофизиологические свойства представителей доминирующих таксономических групп.

Материалы и методы исследования

Экспериментальные исследования проводили на базе бактериологической лаборатории ГУЗИБ № 4 г. Армавира в 2009-2011 гг.

Материалом для исследования служили мазки-отпечатки с поверхностей филлоплана 14 культурных и дикорастущих растений, произрастающих в г. Армавире в трёхкратной повторяемости каждого образца: клена остролистного (*Acer platanoides*), липы сердцевидной (*Tilia cordata* Mill), сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.), жасмина (*Jasminum* L.), берёзы повислой (*Betula pendula*), берёзы белой (*Betula alba*), ольхи мелкопильчатой (*Alnus serrulata*), василька синего (*Centaurea cyanus* L.), ромашки душистой (*Matricaria matricarioides* L.), подсолнечника однолетнего (*Helianthus annuus* L.), календулы лекарственной (*Calendula officinalis*), дуба черешчатого (*Quercus robur* L.), бука лесного (лат. *Fagus sylvatica*), каштана (*Castanea* L.).

Культивирование микроорганизмов осуществляли одновременно на трёх питательных средах (МПА, «ТСЭМ», питательной среде на основе свекольного отвара) с целью выявления наиболее благоприятной среды для культивирования эпифитной микрофлоры.

Культивирование микроорганизмов производилось в термостате при температуре 37°C в течение 24 ч [3].

Результаты и обсуждение

В ходе экспериментального исследования проведён сравнительный анализ химического состава сред на основе растительного

сырья (ТСЭМ – на основе тыквенного отвара и питательной среды – на основе свекольного отвара).

Дано экспериментальное обоснование ростовых качеств данных питательных сред и контрольной питательной среды МПА.

МПА считается универсальной средой для выращивания как сапрофитных, так и условно-патогенных и патогенных микроорганизмов [4].

Эта среда основана на использовании белков, нуклеиновых кислот, жиров, углеводов и минеральных веществ животного происхождения, которые могут быть трудно усвояемыми для специфической микрофлоры филлосферы, адаптированной к использованию растительных выделений.

ТСЭМ – это питательная среда на основе тыквенного отвара для культивирования эпифитной микрофлоры с добавлением $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ и NaCl [5].

Разработанная питательная среда на основе свекольного отвара состоит из следующих компонентов, г/л: свекольный отвар – 900,0; натрия хлорид (NaCl) – 2,0; агар микробиологический – 20,0; дистиллированная вода – до 1 л.

Свекла в качестве субстрата питательной среды на основе свекольного отвара была выбрана в результате того, что её биологическая ценность связана с наличием большого количества органических веществ, легкоусвояемых углеводов (глюкоза, фруктоза), витаминов (ретинол (Vit A), тиамин (Vit B₁), рибофлавин (Vit B₂), пантотеновой кислоты (Vit B₃), пиридоксина (Vit B₆), фолиевой кислоты (Vit BC), аскорбиновой кислоты (Vit C), никотиновой кислоты (Vit PP), токоферола (Vit E)) и микроэлементов (Fe^{3+} , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , S^{3+} , P^{4+} , Cl^- , V^+ , I^- , Co^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{3+} , Rb^+ , Fe^{3-} , Cr^{2+} , Zn^{2+}), а также каротиноидов [6, 7].

При изучении углеводного состава питательной среды на основе свекольного отвара, проведённого методом хроматографического анализа, установили наличие моносахаридов (глюкозы, фруктозы, галактозы, арабинозы), дисахаридов (сахарозы, мальтозы), полисахаридов (крахмала, целлюлозы, гемицеллюлозы).

Данные хроматограмм аминокислотных составов питательных сред ТСЭМ (Заикина И.А., Мануйлов И.М., 2008) и питательной среды на основе свекольного отвара представлены в таблице 1.

Минеральный фон питательной среды ТСЭМ, мкг/мл: K – 9387; Ca – 15,4; Fe – 4,0; Mg – 18,7; Na – 26,1; Zn – 1,96; Cl – 0,061; Mn – 0,4; F – 0,86; Cu – 1,8; S – 0,18; P – 37,51 (Заикина И.А., Мануйлов И.М., 2008).

Согласно экспериментальным данным, питательная среда на основе свекольного отвара по своему химическому составу не уступает питательной среде «ТСЭМ».

В экспериментальной питательной среде и питательной среде на основе тыквенного отвара отмечается высокое содержание калия (1480 и 9387), что, по всей вероятности, способствует улучшению ростовых качеств эпифитных микроорганизмов.

Питательные среды на основе растительных отваров (ТСЭМ – на основе тыквенного отвара и питательная среда – на основе свекольного отвара) имеют в своём составе углеводы, аминокислоты, минеральные со-

ли, витамины, микро- и макроэлементы и незначительную долю белка в сочетаниях, наиболее подходящих для жизнедеятельности эпифитных микроорганизмов.

Определили ростовые качества исследуемых питательных сред растительного происхождения и контрольной питательной среды МПА [8].

Данные отражены в таблице 2.

Из данных таблицы 2 следует, что ростовые качества представителей эпифитной микрофлоры, культивируемой на питательной среде на основе свекольного отвара и на «ТСЭМ», практически идентичны.

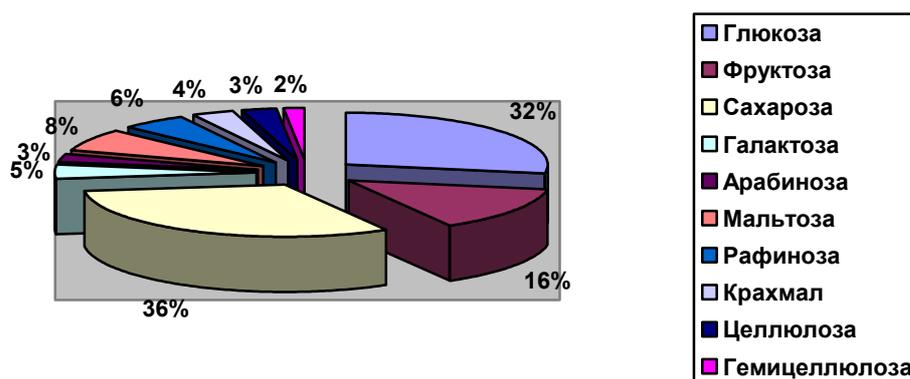


Рис. 1. Углеводный состав питательной среды на основе свекольного отвара, %

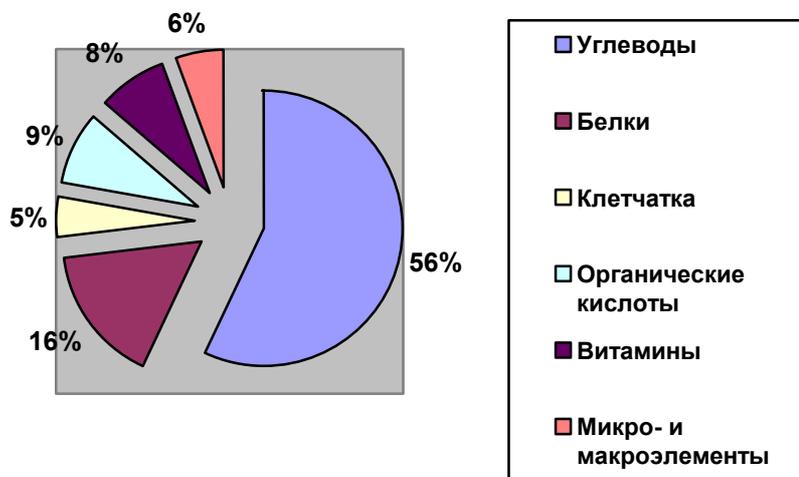


Рис. 2. Показатели химического состава питательной среды на основе свекольного отвара, %

Таблица 1
Аминокислотный состав ТСЭМ и питательной среды на основе свекольного отвара

Питательные среды	
ТСЭМ	На основе свекольного отвара
Аспарагин солянокислый	Аспарагин
DL-лизин солянокислый	Глютаминовая кислота
DL-β-фенил-α-аланин	Аланин
Трионин	Триптофан
DL-валин	Валин
Тирозин	Трионин

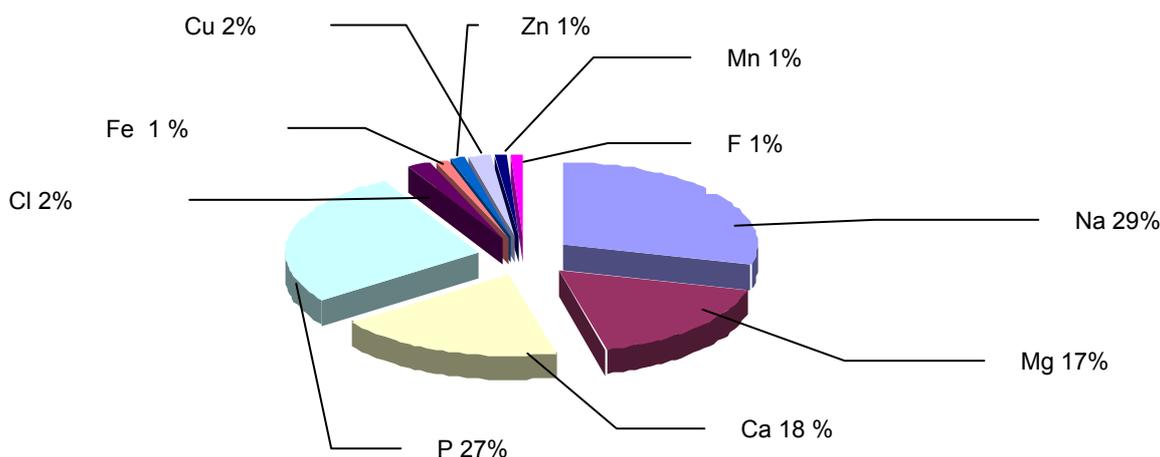


Рис. 3. Элементный состав питательной среды на основе свекольного отвара, %

Таблица 2

Сравнительная характеристика роста эпифитной микрофлоры на экспериментальной и контрольных питательных средах

Питательная среда	Инокулят	Инкубация	Рост колоний
Питательная среда на основе свекольного отвара	0,1 мл разведения 10^{-6}	12-24 ч	Хороший
МПА	0,1 мл разведения 10^{-6}	12-24 ч	Обильный
ТСЭМ	0,1 мл разведения 10^{-6}	12-24 ч	Хороший

Представителей доминирующих таксономических групп выделяли в чистую культуру и идентифицировали до рода по Определителю бактерий Берджи (1997 г.) [9].

Питательная среда на основе свекольного отвара позволяет также выделять широкий спектр микроорганизмов, среди которых некоторые представители родов: *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Alternaria sp.*, *Mucor sp.*, дрожжи, актиномицеты.

Среди эпифитных представителей *Pseudomonas* и *Bacillus*, культивированных на питательной среде на основе свекольного отвара, выделены и идентифицированы следующие виды: *Ps. fluorescens*, *Ps. chlororaphis*, *Ps. putida*, *Ps. aeruginosa*, *Bac. megaterium*, *Bac. cereus*, *Bac. mycoides*, *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*, *Bac. laterosporus*.

Питательные среды на основе растительного сырья (питательная среда на основе свекольного отвара и ТСЭМ) обеспечивают типичный рост представителей эпифитной микрофлоры, стабильность сохранения их морфофизиологических, тинкториальных, культуральных и биохимических свойств.

Таким образом, проведенные исследования показывают, что данные питательные среды можно рекомендовать как полноценные для культивирования эпифитной микрофлоры, в том числе и некоторые представители родов *Pseudomonas* и *Bacillus*.

Библиографический список

1. Возняковская Ю.М. Микрофлора здоровых растений: дис. д-ра биол. наук. – М., 1964. – 586 с.
2. Дементьева А.И. Фитопатология. – М.: Агропромиздат, 1985. – 215 с.
3. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 571 с.
4. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. – М.: Медицина, 1982.
5. Заикина И.А. Питательная среда для культивирования эпифитной микрофлоры // Естествознание и гуманизм: сб. научн. работ. – Томск, 2006. – Т. 3. – № 2. – С. 67-68.
6. Бормотов В.Е., Матошко И.В., Кипнис Е.А. Аминокислотный состав белков сахарной свёклы разной ploидности // Доклады АН БССР. – 1969. – Т. 14. – № 7. – С. 639-641.
7. Шпаар Д. Сахарная свёкла. – Минск: Юнипак, 2000.
8. Методы контроля бактериологических питательных сред: методические указания. МУК 4.2.2316-08. – М., 2008.
9. Хоулт Дж., Криг Н., Снит П. Определитель бактерий Берджи. – М.: Мир, 1997.