

ЭКОЛОГИЯ

УДК 579.246.2

И.Б. Бороздина,
И.А. Заикина

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ *PSEUDOMONAS* И *BACILLUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ С ПОВЕРХНОСТИ ФИЛЛОПЛАНА И ЦВЕТКА У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА *COMPOSITAE*

Ключевые слова: идентификация, филлоплан, Сложноцветные, экссудация, количественные показатели, сезонная динамика, *Pseudomonas*, *Bacillus*, эпифитная микрофлора, микроорганизмы.

Введение

Взаимоотношения микроорганизмов и высших растений являются одной из интереснейших и сложнейших проблем современной микробиологии. Эпифитная микрофлора служит показателем микробиологического мониторинга автотрофного яруса трофической структуры экосистемы [1].

Численность эпифитной микрофлоры филлоплана и надземных частей растений является индикатором сезонной физиологической активности растений [2].

Процессы роста и развития растений протекают по генетически заданной программе, координируются гормонами и модифицируются под влиянием внешней среды.

Установлено существование взаимосвязей между отдельными показателями физиолого-биохимического состояния растений и численностью микроорганизмов, обусловленных метаболизмом растений [3].

Эпифитная микрофлора растений характеризуется большой вариабельностью как по численности, так и по составу, в зависимости от сезонного развития растений, их бактерицидной активности и метеорологических условий, вегетационного периода, вида растений, возраста, типа

почвы, условий произрастания, их высоты и целостности [4].

Изучение бактериальной обсеменённости растений сем. Сложноцветные является одной из актуальных проблем микробиологии, поскольку многие их виды используются в качестве лекарственного сырья.

Цель — изучить динамику сезонных колебаний количественных и качественных показателей микрофлоры верхней поверхности филлоплана и поверхности цветков семейства Сложноцветные (*Compositae*) и установить количественный состав представителей рода *Pseudomonas* и *Bacillus*.

Объекты и методы исследования

Исследование проводилось в летне-осенний период 2008-2009 гг. на базе кафедры общей биологии ГОУ ВПО «Ставропольский государственный университет» и бактериологической лаборатории ГУЗИБ № 4 г. Армавира.

Объектом исследования являлись микроорганизмы, выделенные с верхней поверхности филлоплана и поверхности цветков семейства Сложноцветные (*Compositae*): Василёк синий (*Centaurea cyanus* L.), Ромашка душистая (*Matricaria matricarioides* L.), Подсолнечник однолетний (*Helianthus annuus* L.), Календула лекарственная (*Calendula officinalis*).

Изучение динамики сезонных колебаний представителей рода *Pseudomonas* и *Bacillus* проводили путём отбора проб методом отпечатков и смывов с верхней по-

верхности филлоплана и поверхности цветков растений сем. *Compositae* Пробы снимали 1 раз в месяц в трёхкратной повторности каждого образца [5, 6].

Для определения бактериального состава культуры микроорганизмов высевали на плотные питательные среды (МПА с 2%-ным глицерином, 5%-ный кровяной агар, ГРМ-агар).

Все засеянные среды инкубировали в течение 24 ч при температуре 37°C.

Общую бактериальную обсеменённость рассчитывали по количеству выросших колоний и определяли количество КОЕ в 1 мл по формуле:

$$M = a \cdot 10^n / V,$$

где a – количество выросших колоний;

10^n – разведение;

V – посевная доза (0,1 мл).

Для изучения морфологических, культуральных, тинкториальных свойств выделенных микроорганизмов из полученных колоний делали мазки, окрашивали их по Синёву и Граму.

Для изучения биохимических свойств *Pseudomonas* и *Bacillus* исследуемый материал высевали на дифференциально-диагностические среды (Кларка, Симмонса, желточно-солевой агар, Хью-Лейбница). Для дифференциальной диагностики дрожжей проводили посев на картофельный агар, плесневых грибов – на агар Чапека [7].

В качестве дополнительных методов определения представителей родов *Pseudomonas* и *Bacillus* использовали СИБы.

Идентификацию микроорганизмов проводили на основе изучения морфологических, тинкториальных, физиолого-биохимических, культуральных свойств выделенных микроорганизмов в соответствии с Определителем бактерий Берджи (1997) [8].

Результаты и обсуждение

Микрофлора растений на поверхности листьев и цветков различна.

На листьях формируется микробный комплекс, изменяющийся по мере развития растений и отличающийся определённым соотношением отдельных групп и видов микроорганизмов. В начале вегетации листья растений заселены главным образом бактериальным сообществом (*Bacillus spp*, *Pseudomonas spp*, *Bact. Herbicola aureum*, *Erwinia sp.* и др.).

На стареющих листьях повышается содержание бесспорных молочнокислых бактерий *E. coli*, плесневых и дрожжеподобных грибов.

При повышении влажности численность эпифитных микроорганизмов возрастает на 13,6%, а при понижении влажности уменьшается на 9,2%.

В результате исследования установили, что эпифитная микрофлора филлоплана по качественному составу довольно разнообразна и типичными её представителями являются: *Ps. fluorescens*, *Ps. chlororaphis*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. putida*, *Ps. radiobacter*, *Bac. cereus*, *Bac. mycoides*, *Bac. megaterium*, *Bac. subtilis*, *Bac. vulgatus*, *Bact. Herbicola aureum*, *Paenibacillus macerans*, *Paenibacillus polymyxa*, *Aspergillus flavus*, *Lactobacillus plantarum*, *Staphylococcus saprophiticus*, *E. Coli*, *Candida albicans*, *Erwinia herbicola*, *Erwinia amylovora*, *Kocuria rosea*, *Pullularia pullulans*, *Alternaria alternata*.

Наряду с эпифитной микрофлорой с поверхности филлоплана были выделены и фитопатогенные бактерии: *Pseudomonas syringae*, *Bac. vulgatus*, *Erwinia amylovora*, *Bac. mesentericus*. Главным источником инфекции являются почва, грунтовые и дождевые воды, насекомые и искусственные повреждения растений.

Анализируя данные таблицы 1, установили, что в летний период отмечается активизация микрофлоры родов *Pseudomonas* и *Bacillus* на верхней поверхности филлоплана, причем преобладают виды рода *Pseudomonas*. Это объясняется воздействием солнечной инсоляции, достаточным увлажнением.

Наибольшей обсеменённостью представителями родов *Pseudomonas* и *Bacillus* обладают листья *Calendula officinalis*. Бацилярная флора на верхней поверхности филлоплана данного растения в летне-осенний период составляла 102,34 и 154,22 колоний, а количество *Pseudomonas* – 137,35 и 89,44. Из всех выявленных видов *Pseudomonas* на поверхности филлоплана преобладали *Ps. fluorescens* (39,6%).

В микробной ассоциации *Pseudomonas* и *Bacillus* в осенний период преобладают спорообразующие бактерии рода *Bacillus* (*Bac. subtilis*, *Bac. megaterium*, *Bac. mesentericus*, *Bac. mycoides*), количество которых возросло в среднем на 40,1%, а количество видов *Pseudomonas* снизилось на 36,9%.

Исследуя микробные ассоциации поверхности цветков, можно сказать, что несмотря на короткий период цветения исследуемых растений семейства Сложноцветных динамическая численность микрофлоры подвержена незначительным колебаниям.

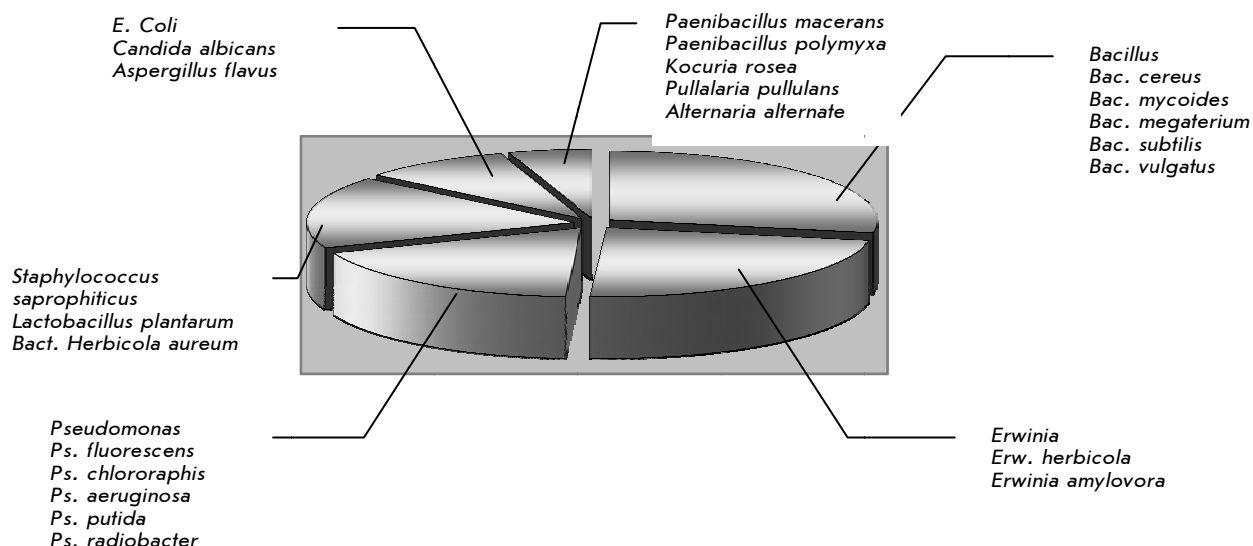


Рис. Видовой состав эпифитной микрофлоры филлоплана

Таблица 1

Количество колоний *Pseudomonas* и *Bacillus*, выделенных с верхней поверхности филлоплана в летне-осенний период 2008-2009 гг. (ср. знач.)

Наименование растения	Количество колоний <i>Bacillus</i> с поверхности филлоплана		Количество колоний <i>Pseudomonas</i> с поверхности филлоплана	
	летний период	осенний период	летний период	осенний период
<i>Calendula officinalis</i>	102,34	154,22	137,35	89,44
<i>Centaurea cyanus</i> L.	97,18	143,64	103,66	61,38
<i>Maricaria matricarioides</i> L.	94,46	137,13	104,58	77,20
<i>Helianthus annuus</i>	89,73	118,92	112,64	82,50

Таблица 2

Квантитативные показатели эпифитных микроорганизмов на поверхности цветков (КОЕ $\times 10^6$ /г)

Название растений	Квантитативные показатели в летний период		Квантитативные показатели в осенний период	
	<i>Pseudomonas</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Bacillus</i>
<i>Calendula officinalis</i>	13,7 \pm 0,47	10,2 \pm 0,24	8,9 \pm 0,14	15,4 \pm 0,23
<i>Centaurea cyanus</i> L.	10,3 \pm 0,22	9,7 \pm 0,13	6,1 \pm 0,19	14,3 \pm 0,21
<i>Maricaria matricarioides</i> L.	10,4 \pm 0,26	9,4 \pm 0,11	7,7 \pm 0,17	13,7 \pm 0,16
<i>Helianthus annuus</i>	11,2 \pm 0,33	8,9 \pm 0,10	8,2 \pm 0,15	11,8 \pm 0,26

Состав микрофлоры цветка представлен следующими видами: *Ps. fluorescens*, *Ps. chlororaphis*, *Ps. putida*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. radiobacter*, *Ps. desmolytica*, *Bac. cereus*, *Bac. megaterium*, *Bac. subtilis*, *Rhodococcus flavum*, *Paenibacillus macerans*, *E. Coli*, *Paenibacillus polymyxa*, *Arthrobacter flavenscens*, *Arthrobacter album*, *Lactobacillus plantarum*, *Pullularia pullulans*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Candida albicans*, *Erwinia amylovora*, *Sarcina maxima*, *Rhodotorula mucilaginos*.

В таблице 2 отражены квантитативные показатели количественного состава *Pseudomonas* и *Bacillus* в летне-осенний период. Квантитативные показатели *Pseudomonas* в летний период больше, чем

Bacillus (на 1,9 КОЕ $\times 10^6$ /г), а в осенний период преобладают спорообразующие представители рода *Bacillus*.

Заключение

Проведённые исследования показали, что количественные и качественные составы идентифицированных микроорганизмов рода *Pseudomonas* и *Bacillus*, выделенных с поверхности филлоплана и цветков представителей семейства *Compositae*, варьируют. Возможно, это связано с различной степенью экссудации и разным биохимическим составом его у растений внутри одного семейства. Кроме того, различия в квантитативных показателях и видовом составе связаны с различной бак-

терицидной активностью и степенью проявления фунгицидных свойств.

Выводы

1. В результате экспериментальной работы было идентифицировано 23 вида микроорганизмов с верхней поверхности филлоплана (*Ps. fluorescens*, *Ps. chlororaphis*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. putida*, *Ps. radiobacter*, *Bac. cereus*, *Bac. mycoides*, *Bac. megaterium*, *Bac. subtilis*, *Bac. vulgatus*, *Bact. Herbicola aureum*, *Paenibacillus macerans*, *Paenibacillus polymyxa*, *Aspergillus flavus*, *Lactobacillus plantarum*, *Staphylococcus saprophiticus*, *E. Coli*, *Candida albicans*, *Erwinia herbicola*, *Erwinia amylovora*, *Kocuria rosea*, *Pullularia pullulans*, *Alternaria alternate*) и 22 вида с поверхности цветков (*Ps. fluorescens*, *Ps. chlororaphis*, *Ps. putida*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. radiobacter*, *Ps. desmolytica*, *Bac. cereus*, *Bac. megaterium*, *Bac. subtilis*, *Rhodococcus flavum*, *Paenibacillus macerans*, *E. Coli*, *Paenibacillus polymyxa*, *Arthrobacter flavescens*, *Arthrobacter album*, *Lactobacillus plantarum*, *Pullularia pullulans*, *Staphylococcus saprophiticus*, *Candida albicans*, *Erwinia amylovora*, *Sarcina maxima*, *Rhodotorula mucilaginosus*).

2. Получены данные о степени обсеменённости верхней поверхности филлоплана и поверхности цветков сем. Сложноцветных (*Compositae*): Василька синего (*Centaurea cyanus* L.), Ромашки душистой (*Matricaria matricarioides* L.), Подсолнечника однолетнего (*Helianthus annuus* L.), Календулы лекарственной (*Calendula officinalis*) представителями выделенных таксономических групп в летне-осенний период.

3. Отражены количественные показатели количественного состава *Pseudomonas* и *Bacillus* поверхности филлоплана и цветков растений сем. Сложноцветных (*Compositae*) в летне-осенний период, играющие большую роль в разработке методов биологической защиты растений.

Библиографический список

1. Барчева А.В. Изучение эпифитных микромицетов филлосферы древесных растений / А.В. Барчева. – Астрахань: Издательство АГТУ, 2008. – 23 с.
2. Заикина И.А. Эпифитная микрофлора здоровых растений. – Пенза: РИО ПГСХА, 2007. – Ч. 2. – С. 40-44.
3. Нескороженный Б.Ф. Оценка антагонистической активности эпифитной микрофлоры филлоплана яблони / Б.Ф. Нескороженный, М.Ж. Резиу. – Киев: Изд-во ВНИИТЭИа, 1989.
4. Новикова Н.С. Бактериальная флора надземных органов растений / Н.С. Новикова. – Киев, 1983. – 86 с.
5. Нетрусов А.И. Экология микроорганизмов / А.И. Нетрусов. – М.: Академия, 2004. – С. 272.
6. Полякова М.М. Выделение и идентификация эпифитных дрожжей плодовых деревьев / М.М. Полякова. – Астрахань: Изд-во АГТУ, 2008.
7. Зубков М.Н. Неферментирующие бактерии: классификация, общая характеристика, роль в патологии человека. Идентификация *Pseudomonas* spp. и сходных микроорганизмов / М.Н. Зубков. – М.: Инфекции и антимикробная терапия, 2003. – Т. 5. – № 1.
8. Хоулт Дж. Определитель бактерий Берджи / Дж. Хоулт, Н. Криг, П. Снит. – М.: Мир, 1997.



УДК 582.736:581.142

С.Б. Нечепуренко,
О.В. Дорогина

ВОЗДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН *HEDYSARUM THEINUM* KRASNOB (FABACEAE)

Ключевые слова: копеечник чайный, период прорастания, твердосемянный, скарификация, стратификация, гиббереллин, энергия прорастания.

Введение

Копеечник чайный *Hedysarum theinum* Krasnob. – редкий высокогорный субаль-