
БІОРІЗНОМАНІТТЯ ТА БІОБЕЗПЕКА ЕКОСИСТЕМ

УДК 574.3:579.26

АЛЕЛОПАТИЧНИЙ ВПЛИВ РОСЛИН РОДУ *SALIX* НА ПОПУЛЯЦІЇ БАКТЕРІЙ *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE*

О.В. Гулай

Інститут агроекології і природокористування НААН

Досліджено наслідки впливу листових змивів *Salix caprea*, *Salix alba*, *Salix fragilis* на популяції патогенних бактерій *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Встановлено, що листові змиви верб мають пригнічувальний вплив на популяції *E. rhusiopathiae*. У дослідних зразках щільність клітин *E. rhusiopathiae* була нижчою, ніж на контролі. Визначено, що між рівнем розведення листових змивів рослин роду *Salix* та інтенсивністю пригнічення популяцій бактерій існує високий (сильний) корелятивний зв'язок. У природних умовах через виділення біологічно-активних речовин *S. caprea*, *S. alba*, *S. fragilis* можуть впливати на стан популяцій патогенних бактерій *E. rhusiopathiae*, внаслідок чого між цими видами формуються біоценотичні зв'язки топічного типу.

Ключові слова: *Salix caprea*, *Salix alba*, *Salix fragilis*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, топічний вплив.

Здатність збудників багатьох інфекційних захворювань активно існувати в об'єктах навколишнього природного середовища доведено роботами багатьох дослідників [1–2]. Деякі з цих патогенів формують на певних територіях так звані осередки — місця, в яких збудники тривалий час функціонують і зберігаються. До низки видів, що здатні формувати такі природні осередки, належать бактерії *Erysipelothrix rhusiopathiae* — збудники бешихи (*Erysipelas*), захворювання багатьох сільськогосподарських тварин і людини [3].

Бактерії *E. rhusiopathiae* доволі поширені у природі, і хоча вони не здатні формувати спори та капсули, однак є достатньо стійкими до впливу різноманітних несприятливих чинників [3, 4]. За існування в об'єктах навколишнього природного середовища (водоймах, ґрунтах) *E. rhusiopathiae*, безперечно, вступають у різноманітні екологічні взаємозв'язки з компонентами екосистем. Однак у науковій літературі міститься дуже мало інформації про перебіг та наслідки цих взаємодій. З огляду на

це, нами було розпочато серію досліджень з вивчення впливу різноманітних компонентів екосистем на патогенні бактерії *E. rhusiopathiae*. Особлива увага приділяється рослинам, зважаючи на їх важливе значення у формуванні та існуванні біогеоценозів [5–8]. Продовжуючи дослідження у цьому напрямі, ми поставили за мету з'ясувати особливості впливу на популяції патогенних бактерій *E. rhusiopathiae* прижиттєвих виділень (листових змивів) видів роду *Salix*, а саме: верби козячої (*Salix caprea* L., 1753), верби білої (*Salix alba* L., 1753) та верби ламкої (*Salix fragilis* L., 1753) [9] — поширених в Україні видів деревних рослин, що зростають у прибережних ділянках та на перезволожених землях.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Збір листків досліджуваних видів верби проводили у літній період (червень) за сухої погоди. Листки зривали з різних частин крони, поміщали у чисті пластикові пакети і транспортували у лабораторію. Для одержання достовірних результатів відбір зразків для досліджень здійснювали з 10 екземплярів кожного виду верб.

© О.В. Гулай, 2014

У лабораторії листки зважували, поміщали (без подрібнення) у широкогорлі колби і заливали водою, що була взята з водогону і відстояна впродовж 48 год. Співвідношення води до маси листків становило 1:4. Після цього колбу закривали і обертали так, щоб вода змочила усі листки, цю операцію повторювали кожні 5 хв. Через 30 хв змиви зливали у вимірювальний циліндр. Оскільки частина води залишається на листках, у циліндр з листками двічі додавали невелику порцію води для їх споліскування, після чого воду зливали у циліндр для одержання необхідного об'єму відповідно до прийнятого співвідношення [10].

Одержані змиви проціджували через фільтрувальний папір, що дало змогу позбавитись великих зважених часток. Для проведення біотестування листові змиви верб стерилізували за допомогою бактеріальних фільтрів з діаметром пор 0,2 мкм.

У дослідях використовували бактерії *E. rhusiopathiae*, які культивували на серцево-мозковому бульйоні (AES Chemunex, Франція) впродовж 48 год при температурі $+36,7 \pm 0,3$ С.

Після інокуляції бактерій дослідні зразки містили листові змиви рослин у таких розведеннях: 1:10, 1:100, 1:1000 та 1:10000. Контрольні зразки мали аналогічні співвідношення культур бактерій та води з водогону, що була простерилізована у такий самий спосіб, що і змиви з піддослідних видів рослин.

Через 48 год з дослідних та контрольних зразків, що перебували при температурі $+20,0 \pm 2,0$ С, відбирали проби для визначення щільності популяцій *E. rhusiopathiae*. Після декількох розведень стерильною водою на поверхню серцево-мозкового агару висівали проби об'ємом 0,1 см³ на 1 чашку Петрі. Посіви культивували впродовж 72 год при температурі $+36,7 \pm 0,3$ С. Колонії *E. rhusiopathiae* підраховували за допомогою мікроскопа МБС-10. Кількість живих бактерій у дослідних та контрольних зразках перераховували на об'єм 1,0 см³.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати статистичної обробки даних [11] доводять достовірність одержаних результатів (табл. 1–3). Популяції бактерій *E. rhusiopathiae* зазнавали най-

Таблиця 1

Зміна щільності популяцій бактерій *E. rhusiopathiae* за впливу листових змивів *S. caprea**

№ досліджу	Щільність популяцій <i>E. rhusiopathiae</i> , тис. клітин/см ³				
	Дослід (розведення виділень)				Контроль
	1:10	1:100	1:1000	1:10 000	
1	37,00	78,00	118,00	196,00	280,00
2	29,00	83,00	102,00	182,00	230,00
3	36,00	68,00	121,00	179,00	380,00
4	29,00	71,00	111,00	193,00	340,00
5	39,00	77,00	109,00	185,00	320,00
6	42,00	82,00	115,00	209,00	410,00
М	35,33	76,50	112,67	190,67	326,67
Для розведення 1:10			t = 9,89	t _{кр.} = 4,59	P 0,001
— « — 1:100			t = 8,49	t _{кр.} = 4,59	P 0,001
— « — 1:1000			t = 7,25	t _{кр.} = 4,59	P 0,001
— « — 1:10000			t = 4,57	t _{кр.} = 3,17	P 0,01

Примітка: *М — середнє арифметичне; t — коефіцієнт Ст'юдента; t_{кр.} — критична величина показника t, P — рівень ймовірності.

Таблиця 2

Зміна щільності популяцій бактерій *E. rhusiopathiae* за впливу листкових змивів *S. alba**

№ досліджу	Щільність популяцій <i>E. rhusiopathiae</i> , тис. клітин/см ³				
	Дослід (розведення виділень)				Контроль
	1:10	1:100	1:1000	1:10 000	
1	120,00	310,00	560,00	880,00	1730,00
2	96,00	270,00	630,00	960,00	1780,00
3	150,00	350,00	590,00	870,00	1850,00
4	160,00	330,00	570,00	1180,00	2010,00
5	102,00	290,00	610,00	990,00	1970,00
6	140,00	280,00	580,00	1070,00	1880,00
М	128,00	305,00	590,00	991,67	1870,00
Для розведення 1:10			t = 35,20	t _{кр.} = 4,59	P 0,001
— « — 1:100			t = 31,29	t _{кр.} = 4,59	P 0,001
— « — 1:1000			t = 25,87	t _{кр.} = 4,59	P 0,001
— « — 1:10000			t = 12,29	t _{кр.} = 4,59	P 0,001

Примітка: * (див. табл. 1).

Таблиця 3

Зміна щільності популяцій бактерій *E. rhusiopathiae* за впливу листкових змивів *S. fragilis**

№ досліджу	Щільність популяцій <i>E. rhusiopathiae</i> , тис. клітин/см ³				
	Дослід (розведення виділень)				Контроль
	1:10	1:100	1:1000	1:10 000	
1	100,00	170,00	280,00	620,00	980,00
2	98,00	140,00	310,00	580,00	940,00
3	87,00	210,00	350,00	610,00	990,00
4	90,00	190,00	300,00	540,00	870,00
5	93,00	180,00	260,00	590,00	950,00
6	85,00	170,00	330,00	570,00	970,00
М	92,17	176,67	305,00	585,00	950,00
Для розведення 1:10			t = 43,82	t _{кр.} = 4,59	P 0,001
— « — 1:100			t = 35,10	t _{кр.} = 4,59	P 0,001
— « — 1:1000			t = 26,55	t _{кр.} = 4,59	P 0,001
— « — 1:10000			t = 15,68	t _{кр.} = 4,59	P 0,001

Примітка: * (див. табл. 1).

сильнішого пригнічення у зразках із малим розведенням листкових змивів. Так, у дослідних зразках із розведенням лист-

кових змивів 1:10 щільність популяцій *E. rhusiopathiae* була нижчою, ніж на контролі: для верби білої — у 14,61 раза, вер-

би ламкої — у 10,31 та для верби козячої — у 9,25 раза.

Із збільшенням показника розведення змивів у дослідних зразках різниця у кількості клітин бактерій порівняно з контролем поступово зменшується. За розведення листових змивів 1:100 ця різниця становить: для верби козячої — 4,27 раза, верби білої — 6,13, верби ламкої — 5,38 раза, із переважанням кількості клітин бактерій на контролі.

У дослідних зразках із розведенням листових змивів верб 1:1000 кількість клітин бактерій була нижчою, ніж на контролі: для верби білої — у 3,17 раза, верби ламкої — у 3,11 та для верби козячої — у 2,90 раза.

Виявлена закономірність, на нашу думку, пояснюється тим, що концентрація біологічно-активних речовин, що містяться у змивах з листків рослин, відповідно до умов проведення експерименту знижувалась, а тому зменшувався і негативний вплив на популяції піддослідного виду бактерій. Так, за найбільших величин розведень листових змивів, що випробовувались у процесі експериментів, — 1:10000, різниця між кількістю *E. rhusiopathiae* у досліді та на контролі була найменшою. Зокрема, у дослідних зразках із виділеннями верби білої щільність популяцій *E. rhusiopathiae* була у 1,89 раза нижчою, ніж на контролі. Для верби ламкої цей показник був нижчим у 1,62 раза, а для верби козячої — у 1,71 раза.

Висловлене припущення також підтверджується розрахунком з використанням коефіцієнта кореляції: для верб білої та козячої — 0,91, а для верби ламкої — 0,95, що свідчить про високий (сильний) зв'язок між корелятивними ознаками, а саме між показником розведення листових змивів та щільністю популяцій *E. rhusiopathiae*.

У місцях зростання верб (береги водойм, перезволожені ділянки) атмосферні опади вимивають з поверхні листків цих видів рослин виділені біологічно-активні речовини, що потрапляють у ґрунти та водойми.

Результати досліджень, одержані *in vitro*, свідчать, що у межах фітогенного поля верб

білої, ламкої та козячої для патогенних бактерій *E. rhusiopathiae* можуть створюватись несприятливі умови існування.

Для перевірки цього припущення нами був проведений збір проб у природних умовах. Під наметом досліджуваних видів верб були встановлені чисті скляні ємності. Такі самі ємності були встановлені на відкритих ділянках, щоб у них могла потрапити тільки дощова вода. Після дощу у ємності, що були встановлені під наметом верб, потрапляли краплі, що стікали з листків цих видів рослин. В умовах лабораторії було проведено біотестування з використанням бактерій *E. rhusiopathiae* (метод та умови були описані вище). Вода, зібрана під наметом верб, була використана для постановки дослідів, дощова вода, зібрана на відкритих ділянках, — для контролю. Зібрані проби змивів не розводились. Щільність популяцій *E. rhusiopathiae* у досліді була нижчою, ніж на контролі: для верби білої — у 3,6 раза, верби ламкої — у 1,8, для верби козячої — у 2,1 раза.

Обстежені види рослин роду *Salix* виділяють в середовище існування біологічно-активні речовини і тим самим впливають на умови існування бактерій *E. rhusiopathiae*, внаслідок чого змінюється їх кількість. Результати аналізу міжвидових взаємодій свідчать, що між піддослідними видами формується топічний тип біоценотичних зв'язків.

Виявлення негативного впливу прижиттєвих виділень рослин роду *Salix* на патогенні бактерії *E. rhusiopathiae* має не тільки теоретичне значення, але й становить певний практичний інтерес. Використання різних видів верб для зниження потенціалу існуючих вогнищ *E. rhusiopathiae* виглядає доволі перспективним. Однак для розроблення відповідних рекомендацій необхідно провести ще низку досліджень, зокрема з'ясувати характер та інтенсивність впливу на бактерії *E. rhusiopathiae* корневих дифузатів верб та листового опаду на різних стадіях розкладу.

З огляду на вагоме епізоотичне та епідеміологічне значення, що має *E. rhusio-*

pathiae, а також значну поширеність цих хвороботворних бактерій, важливо продовжувати дослідження екологічних зв'язків цих патогенних організмів з різноманітними компонентами екосистем, зокрема рослинами.

ВИСНОВКИ

Біологічно активні речовини, що містяться у листових змивах досліджуваних видів верб (*S. alba*, *S. fragilis*, *S. caprea*), мають чітко виражений вплив на бактерії *E. rhusiopathiae*.

Із збільшенням ступеня розведення листових змивів верб інтенсивність негативного впливу на популяції патогенних бактерій *E. rhusiopathiae* зменшується.

У межах фітогенного поля досліджених видів рослин створюються несприятливі умови для існування *E. rhusiopathiae*.

В умовах водних та прибережних екосистем між рослинами роду *Salix* та бактеріями *E. rhusiopathiae* формуються біоценологічні зв'язки топінного типу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Эпидемиологические аспекты экологии бактерий / [В.Ю. Литвин, А.Л. Гинцбург, В.И. Пушкарева и др.]. — М.: Фармарус-Принт, 1998. — 255 с.
2. Сомов Г.П. Сапрофитизм и паразитизм патогенных бактерий: Экологические аспекты / Г.П. Сомов, В.Ю. Литвин. — Новосибирск: Сиб. отд. Наука, 1988. — 203 с.
3. Борисович Ю.Ф. Инфекционные болезни животных: Справочник / Ю.Ф. Борисович, Л.В. Кириллов; под. ред. Д.Ф. Осидзе. — М.: Агропромиздат, 1987. — 288 с.
4. Воронин Е.С. Рожа свиней: профилактика и меры борьбы / Е.С. Воронин, М.В. Воронина. — М.: ВНИИТЭНагропром, 1987. — 46 с.
5. Головкин Э.А. Микроорганизмы в аллелопатии высших растений / Э.А. Головкин. — К.: Наукова думка, 1984. — 200 с.
6. Гулай О.В. Біотичні зв'язки патогенних бактерій *Erysipelothrix rhusiopathiae* та синьозелених водоростей *Microcystis pulverea* / О.В. Гулай, О.М. Жуковский // Біологія тварин. — 2013. — Т. 15. — № 3. — С. 9–16.
7. Гулай О.В. Формування екологічних зв'язків *Erysipelothrix rhusiopathiae* з *Riccia fluitans* у гідробіоценозах / О.В. Гулай, О.М. Жуковский // Рибогосподарська наука України. — 2013. — № 4. — С. 17–24.
8. Changes in the Population Density of Pathogenic Microorganisms in Response to the Allelopathic Effect of *Thypha latifolia* / О.М. Zhukorskiy, O.V. Gulay, V.V. Gulay, N.P. Tkachuk // Agricultural sciences and practice. — 2014. — No. 1. — P. 31–36.
9. Определитель высших растений Украины / [Д.Н. Доброчаева, М.И. Котов, Ю.Н. Прокудин и др.]. — К.: Наукова думка, 1987. — 546 с.
10. Гродзинский А.М. Основы химической взаимодействия растений / А.М. Гродзинский. — К.: Наукова думка, 1973. — 190 с.
11. Брандт З. Анализ данных. Статистические и вычислительные методы для научных работников и инженеров / З. Брандт; Пер. с англ. — М.: Мир, ООО «Издательство АСТ», 2003. — 686 с.