

УДК 597: 582.794.1: 582.681.71

ИЗУЧЕНИЕ ЭПИФИТНОЙ МИКРОФЛОРЫ НЕКОТОРЫХ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР

Сиротин А.А., Зеленкова В.Н., Шкуропат М.Н., Кортюкова Е.А.

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»), Белгород, e-mail: sirotin@bsu.edu.ru

Проведен анализ эпифитной микрофлоры овощных культур семейств Тыквенные (Cucurbitaceae) и Зонтичные (Umbelliferae) на примере кабачка обыкновенного (*Cucurbita pepo* var. *gipomontina*) и моркови обыкновенной (*Daucus carota*). В ходе исследования изучена микрофлора поверхности листьев растений, проанализирована динамика, количественный и качественный состав микроорганизмов. При подборе растений учитывались их отдаленное систематическое положение и некоторые морфологические признаки, оказывающие влияние на формирование эпифитной микрофлоры растений. Выделение и определение численности эпифитных микроорганизмов проводилось методом смыва с поверхности листьев растений. Для изучения состава микрофлоры применялись среды КМАи ФАНМ и БГКП. Идентификация культур проводилась по определителям бактерий и актиномицетов Красильникова и Берджи. До 80% общего количества эпифитов составляют клетки *Erwinia herbicola* (*Pseudomonas herbicola*).

Ключевые слова: эпифитные микроорганизмы, филлосфера, бактерии группы кишечной палочки (БГКП), бактерии-космополиты

STUDYING BY EPIFITNA MIKROFLORY SOME VEGETABLE CULTURES

Sirotin A.A., Zelenkova V.N., Shkuropat M.N., Kortyukova E.A.

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Belgorod National Research University», Belgorod, e-mail: sirotin@bsu.edu.ru

Is carried out the analysis of epifitny microflora of vegetable cultures of families Pumpkin (Cucurbitaceae) and Umbrella (Umbelliferae) on the example of a vegetable marrow ordinary (*Cucurbita pepo* var. *gipomontina*) and carrots of ordinary (*Daucus carota*). During research the microflora of a surface of leaves of plants is studied, dynamics, quantitative and qualitative structure of microorganisms is analysed. When choosing of plants their remote systematic situation and some morphological features exerting impact on formation of epifitny microflora of plants were considered. Allocation and determination of number the epiphytic microorganisms was carried out by a washout method. The KMAI FANM and CB environments were applied to studying of structure of microflora. Identification of cultures was carried out on determinants of bacteria and Krasilnikov and Berdzhii's actinomycetes. About 80% of total of epiphytes make cages of *Erwinia herbicola* (*Pseudomonas herbicola*).

Keywords: epiphytic microorganisms, phyllosphere, coliform bacteria (CB), bacteria cosmopolitans

Микрофлора поверхности листьев хорошо изучена, но её характеристики настолько изменчивы под влиянием различных факторов, что изучение остается актуальным постоянно. Она оказывает влияние на рост и развитие растений, а также существенно влияет на урожайность растений, так как находится в теснейшем контакте с растением в течение всего вегетационного периода.

К настоящему времени доказано положительное влияние многих корневых и почвенных микроорганизмов. В полной мере не изучены многие стороны взаимоотношений эпифитных микроорганизмов с растениями.

Целью исследования является изучение видов микроорганизмов, встречающихся на здоровых растениях семейства Тыквенные на примере кабачка обыкновенного (*Cucurbita pepo* var. *gipomontina*) и семейства Зонтичные на примере моркови обыкновенной (*Daucus carota*).

Типичные эпифиты существуют на здоровых растениях как олиготрофы, за счет незна-

чительных количеств питательных веществ, постоянно выделяющихся на поверхность органов растений, – продуктов экзосмоса. Из-за нехватки питательных веществ они могут находиться в неактивном состоянии. Эпифитные микроорганизмы имеют устойчивость к фитонцидам, могут переносить колебания влажности, температуры. Известно, что многие эпифиты вырабатывают биологически активные вещества и существенно влияют на продуктивность растений [4]. Бактерии рода *Pseudomonas*, обитающие на поверхности филлосферы многих овощных культур, способны синтезировать стимуляторы роста растений, такие как ауксин, гибберелин, цитотоксин. Некоторые бактерии известны как продуценты витаминов. Примером могут служить молочнокислые бактерии – распространенные эпифиты, синтезирующие витамины группы В. Эпифиты обладают антагонистическими свойствами к ряду фитопатогенных грибов и бактерий благодаря синтезу антибиотиков. Например, *Erwinia herbicola* – часто встречаемая бактерия в составе эпифитной

микрофлоры, является антогонистом возбудителя мягкой гнили овощей [1].

В соответствии с поставленной задачей мы исследовали нормальную микрофлору здоровых растений семейства Тыквенные (*Cucurbitaceae*) и семейства Сельдерейные (*Umbelliferae*). При подборе растений нами учитывались их отдаленное систематическое положение и некоторые морфологические признаки, оказывающие влияние на формирование эпифитной микрофлоры растений. Проанализировали динамику, количественный и качественный состав микроорганизмов исследуемых растений.

Для выделения и определения численности эпифитных микроорганизмов использовали метод смыва. При изучении состава микрофлоры применялись среды: КМАи ФАНМ и БГКП.

Идентификация культур проводилась по определителям бактерий и актиномицетов Красильникова и Берджи [2, 5].

Количественная характеристика микрофлоры представлена в табл. 1.

Из представленных данных видно, что в эксперименте, который был поставлен 16 сентября 2014 г., численность бактерий, выросших на питательных средах, суще-

ственно больше, чем в анализе 17 октября 2015 г. Это связано, по-видимому, с погодными условиями, влияющими на общую обсемененность микроорганизмами, а также снижением активности растений.

До 80% общего количества эпифитов составляют клетки *Erwinia herbicola* (*Pseudomonas herbicola*). Эта неспорообразующая бактерия на мясопептонном агаре образует золотисто-желтые колонии.

По видовому составу среди бактерий-эпифитов наземных высших растений распространены такие традиционные представители бактерий-космополитов, как *Pseudomonas fluorescens*, *Ps.furbicola aurum*, *Ps.putida*, *Pantoea agglomerans*, *Arthrobacter flavescens*, *A.album*, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis*, *B.megaterium*, *Klebsiella rosea*.

Выявленные бактерии из группы БГКП представлены *Micrococcus sp.*

Из всех колоний грибов, выросших на чашках Петри, мы определили принадлежность к родам *Penicillium u Cladosporium*.

Статистическая обработка цифровых данных проводилась разностным методом с оценкой вероятности с помощью критерия Стьюдента, результаты представлены в табл. 2–4 [3].

Таблица 1

Количественная характеристика эпифитной микрофлоры (КОЕ\см²)

| Группа | Кабачок | | | Морковь | | |
|--------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | 10 ⁴ | 10 ⁵ | 10 ⁶ | 10 ⁴ | 10 ⁵ | 10 ⁶ |
| 16 сентября 2014 | | | | | | |
| КМАи ФАНМ | 58,43 | 67,07 | 83,82 | 53,18 | 44,03 | 62,66 |
| БГКП | 51,73 | 35,33 | 86,77 | 42,0 | 55,21 | 68,08 |
| 17 октября 2015 | | | | | | |
| КМАи ФАНМ | 25,52 | 10,87 | 17,66 | 122,62 | 124,33 | 82,65 |
| БГКП | 2,32 | 0,96 | 3,0 | 0,33 | 15,24 | 4,06 |
| Мицелиальные грибы | 1 | 2 | 3 | 4 | 2 | 1 |

Таблица 2

Численность бактерий (КМАиФАНМ), 16. 09. 2014 (КОЕ на чашку Петри)

| Повторения | Кабачок | Морковь | d | d-dcp | (d-dcp) ² |
|------------|---------|---------|--------|---------|----------------------|
| 1 | 316 | 82 | 234 | 9,67 | 93,51 |
| 2 | 284 | 44 | 240 | 15,67 | 245,55 |
| 3 | 258 | 59 | 199 | - 25,33 | 641,61 |
| Среднее | 286 | 61,66 | 224,33 | 0,01 | 980,67 |

$$S_{d(1-2)} = \sqrt{\frac{\sum (d - \bar{d})^2}{n(n-1)}}; S_{d(1-2)} = 12,78$$

$$T_{(1-2)} = (x_{2cp} - x_{1cp})/S_{d(1-2)}; T_{(1-2)} = (286 - 61,66)/12,78 = 17,55; v = (3-1) + (3-1) = 4,$$

при уровне значимости $p = 0,001$, $T_{st} = 8,61$, т.е. $T_{(1-2)} > T_{st}$, следовательно различия считаются достоверными.

Таблица 3

Численность бактерий (БГКП), 16. 09. 2014 (КОЕ на чашку Петри)

| Повторения | Кабачок | Морковь | d | d-dcp | (d-dcp) ² |
|------------|---------|---------|--------|---------|----------------------|
| 1 | 154 | 85 | 69 | -162,66 | 26458,28 |
| 2 | 358 | 22 | 336 | 104,34 | 10886,83 |
| 3 | 384 | 94 | 290 | 58,34 | 3403,55 |
| Среднее | 298,67 | 67 | 231,66 | 0,02 | 40748,66 |

$$Sd_{(1-2)} = 82,41$$

$T_{(1-2)} = 2,81$, $T_{st} = 2,78$; $v = 4$, при уровне значимости $p = 0,001$, $T_{(1-2)} > T_{st}$, следовательно различия достоверны.

Таблица 4

Численность бактерий (КМАиФАНМ), 17. 10. 2015 (КОЕ на чашку Петри)

| | Кабачок | Морковь | d | d-dcp | (d-dcp) ² |
|---------|---------|---------|-------|--------|----------------------|
| 1 | 46 | 28 | 18 | -18,33 | 334,89 |
| 2 | 74 | 27 | 47 | 10,67 | 113,84 |
| 3 | 62 | 18 | 44 | 7,67 | 58,82 |
| Среднее | 60,66 | 24,33 | 36,33 | 0,01 | 507,55 |

$$Sd_{(1-2)} = 9,19$$

$T_{(1-2)} = 3,95$, $T_{st} = 2,78$; $v = 4$, при уровне значимости $p = 0,001$, $T_{(1-2)} > T_{st}$, следовательно, выявленные различия являются достоверными.

Таблица 5

Численность бактерий (БГКП), 17. 10. 2015 (КОЕ на чашку Петри)

| Повторность | Кабачок | Морковь | d | d-dcp | (d-dcp) ² |
|-------------|---------|---------|------|-------|----------------------|
| 1 | 23 | 18 | 18 | 9,67 | 93,5 |
| 2 | 8 | 7 | 1 | -7,33 | 53,72 |
| 3 | 6 | 6 | 6 | -2,33 | 5,42 |
| Среднее | 12,33 | 4 | 8,33 | 0,003 | 141,79 |

$$Sd_{(1-2)} = 4,86$$

$T_{(1-2)} = (x_2 - x_1) / Sd_{(1-2)} = 11,5$, $T_{st} = 2,78$; $T_{(1-2)} > T_{st}$, $v = 4$, при уровне значимости $p = 0,001$, из этого следует, что различия достоверны.

В результате исследования было установлено, что количество микроорганизмов в филлосфере растений значительно меняется в течение вегетационного периода по датам развития растений, а также зависит от вида растений. Качественный состав бактерий, преобладающих на поверхности растений, в течение вегетационного периода изменяется мало. Отличия у разных растений в различные периоды обнаруживаются главным образом в количественном соотношении между отдельными группами микроорганизмов, а не в их качественном составе.

Выявленные микроорганизмы в основном представлены (80% общего количества эпифитов) *Erwinia herbicola*, *Pseudomonas sp.*, *Micrococcus sp.*. Состав

миклофлоры представлен двумя родами *Penicillium* и *Cladosporium*.

Список литературы

1. Генкель П.А. Микробиология с основами вирусологии. Учеб. пособие для студентов биол. фак. пед. ин-тов. – М.: «Просвещение», 1974. – 271 с.
2. Красильников Н.А. Определитель бактерий и актиномицетов. Изд. «Академии наук СССР», 1949. – 830 с.
3. Моисейченко В.Ф. Основы научных исследований в анатомии. / В.Ф. Моисейченко, М.Ф. Трифонова, А.Х. Зверюхина, В.Е. Ещенко. – М.: Колос, 1996. – 336 с.
4. Нетрусов А.И. Экология микроорганизмов. Учеб. для студ. вузов / Е.А. Бонч-Осмоловская, В.М. Горленко и др.; Под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Издательский центр «Академия», 2004. – 271 с.
5. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. Т. 1: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. – М.: Мир, 1997. – 432 с.