

УДК 574.3: 579.26

**ВПЛИВ ПРИЖИТТЄВИХ ВИДІЛЕНЬ *TYPHA ANGUSTIFOLIA* НА  
ПАТОГЕННІ БАКТЕРІЇ *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE***

**О. Гулай**

*Кіровоградський державний педагогічний університет  
імені Володимира Винниченка  
вул. Шевченка, 1, Кіровоград 25006, Україна  
e-mail: ol.gulay@rambler.ru*

Прижиттєві виділення *Typha angustifolia in vitro* здійснюють стимулюючий вплив на патогенні бактерії *Erysipelothrix rhusiopathiae* VR-2 var. IVM. Виразність стимулюючого ефекту прямо залежить від концентрації у зразках прижиттєвих виділень піддослідного виду рослин. У природі при взаємодії патогенних бактерій *E. rhusiopathiae* з *T. angustifolia* виникає топічний тип міжвидових зв'язків. В умовах прісноводних екосистем у формаціях рогозу вузьколистого можуть складатися сприятливі умови для існування патогенних бактерій *E. rhusiopathiae*.

*Ключові слова:* *Typha angustifolia*, екологічний вплив, *Erysipelothrix rhusiopathiae*.

Існування будь-якого виду в екосистемі перебуває у постійній динамічній взаємодії з іншими компонентами біоценозу. Усе це повною мірою стосується і патогенних бактерій, які часто є невід'ємними складовими природних угруповань, формуючи так звані "природні вогнища (осередки)" хвороб. Одною з таких патогенних бактерій є *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Клітини *E. rhusiopathiae* – це тонкі, злегка вигнуті чи прямі палички, які не мають джгутиків та не утворюють спор і капсул. Бактерії поширені у природі та стійкі до численних несприятливих факторів середовища впродовж тривалого часу [1]. *E. rhusiopathiae* патогенні для людини, а також для багатьох видів тварин, спричиняючи захворювання, відомі під назвами: еризипелоїд, бешиха свиней, повзуча еритема, еризипелоїд Розенбаха, мишача септицемія, краснуха натуралістів, еритема Брейкера. Зараження людей і тварин збудником бешихи відбувається через контакт з такими об'єктами середовища як вода і ґрунт [11]. Враховуючи ці обставини, особливого епідеміологічного й епізоотичного значення набувають відомості про міжвидові зв'язки, які впливають на життєдіяльність бактерій *E. rhusiopathiae* в умовах природних і антропогенно змінених екосистем.

Відомо, що рослини є потужним джерелом надходження у біогеоценози цілої низки біологічноактивних речовин, які мають вибіркову дію на мікроорганізми [3]. Аналіз наукової літератури показує, що дедалі більше дослідників приділяють увагу вивченню екологічних взаємодій збудників захворювань людей і тварин з рослинами [8, 9, 13], у тому числі й еризипелотриксів [5, 6, 14].

По всій території України на мілких ділянках водойм, болотах, заплавах зростає рогіз вузьколистий (*Typha angustifolia* Linneus, 1753), що часто формує розлогі зарості [7]. З огляду на поширення та значну біомасу, яку формує цей вид у прибережних ділянках водойм і на мілководді [10], рогіз вузьколистий був обраний нами для вивчення екологічного впливу на популяції патогенних бактерій *E. rhusiopathiae*.

Рогіз вузьколистий – це багаторічна рослина висотою 100–250 см, має добре розвинуте кореневище. Використовується людиною як фітомеліоративна, кормова, харчова, лікарська і технічна рослина [12].

Метою досліджень було з'ясувати характер екологічного впливу *T. angustifolia* на популяції патогенних бактерій *E. rhusiopathiae* через виділення рослинами у водне середовище біологічно активних речовин.

#### Матеріали та методи

Необхідні для досліджень молоді вегетативні особини *T. angustifolia* вилучали з природних місць зростання. Рослини обкопували і відбирали із масивом ґрунту, в якому містилася коренева система. Задля усунення впливу на результати досліджень речовин, що містяться у ґрунті, його вимивали струменями води з водогону до повного оголення кореневої системи. При проведенні цієї процедури корені рослин зазнавали пошкоджень, через які у зразки могли би потрапити речовини, що у звичайних умовах рослинами не виділяються. Відтак, дослідження можна було продовжувати лише після заживлення цих пошкоджень. Для цього рослини кореневою частиною поміщались у чисті скляні ємності з водою, що була взята з водогону і відстоювалась упродовж 2 діб. Через 10 діб воду зливали і тричі змінювали, позбавляючись залишків ґрунту, детриту й більшої частини дрібних гідробіонтів, які потрапили до ємностей. При цьому самі рослини з ємностей не вилучались, а їх положення не змінювали задля уникнення повторних пошкоджень коренів, адже за цей час не тільки відбувалося заживлення нанесених травм, але й розвивалися пучки нових, досить тонких корінців.

Для одержання корневих дифузатів у ємності з *T. angustifolia* додавали свіжі порції води у десятикратній кількості щодо біомаси рослин і витримували впродовж 7 діб. Весь цей час рослини перебували в умовах природних добових коливань температури й освітленості. Рівень води підтримували на постійному рівні, додаючи свіжі порції до попередньо нанесених міток на стінках ємностей.

Для одержання корневих дифузатів було використано спосіб “Одержання розчину корневих виділень від рослин, що зростають у природних угрупованнях або в полі”, описаний у роботі [4]. Разом з тим, враховуючи специфіку досліджень, нами були внесені певні зміни. Зокрема, у наших дослідженнях ми не відмивали корені рослин дистильованою водою, а як середовище використовували не поживний розчин, а воду з водогону. Суттєвою відмінністю є тривалість експозиції рослин для одержання виділень. А. М. Гродзінський рекомендує витримувати рослини у поживному розчині 1–2 доби. За його даними, кількість активних речовин у розчині зростає до другого дня і до четвертого утримується на одному рівні, а потім знижується, очевидно, внаслідок розвитку специфічної мікрофлори, яка руйнує кореневі виділення [4, с. 38]. Збільшення терміну експозиції у наших дослідженнях до 7 діб було проведено з огляду саме на ці особливості. Адже у природних умовах поряд із виділенням рослинами біологічно активних речовин відбувається процес їх трансформації мікроорганізмами, переважно в зоні ризосфери [3, 4]. Таким чином, умови одержання корневих дифузатів *T. angustifolia* для проведення експериментів були наближені до природних.

Чисті культури мікроорганізмів для проведення дослідів одержані з колекції Інституту ветеринарної медицини НААН України (м. Київ). Бактерії *E. rhusiopathiae* VR-2 var. IVM культивували на серцево-мозковому бульйоні (AES Chemunex, Франція) за температури  $36,7 \pm 0,3^\circ\text{C}$  упродовж 48 год.

Дослідження змін у популяціях патогенних мікроорганізмів за умов впливу корневих дифузатів рогозу вузьколистого проводили *in vitro*, що моделювали природні умови.

Для проведення досліджень одержані розчини кореневих дифузатів *T. angustifolia* необхідно було стерилізувати методами, що не допускали би змін біологічно активних речовин під впливом високих температур, хімічних агентів чи інших агресивних чинників. Для цього одержаний розчин з виділеннями рогозу вузьколистого стерилізували, пропускали під вакуумом крізь целюлозні фільтри з діаметром пор 0,2 мкм.

Дослідні зразки містили кореневі дифузати *T. angustifolia* у розведеннях 1:10, 1:100, 1:1000 та 1:10000, які були отримані додаванням відповідних кількостей стерильної води з водогону та 0,1 см<sup>3</sup> культур бактерій *E. rhusiopathiae*. Як контроль використано аналогічні дослідним співвідношення стерильної води з водогону та культур *E. rhusiopathiae*. Оскільки культури *E. rhusiopathiae* відбирались для інокуляції з однієї пробірки – початкова кількість бактерій була однаковою у дослідних і контрольних зразках.

Кількість колонійутворювальних одиниць (КЮ) бактерій *E. rhusiopathiae* визначали після 48-годинної експозиції зразків, що зберігались у діапазоні температур 18...20°C. Проби в об'ємі 0,1 см<sup>3</sup> висівали на поверхню поживного агару (AES Chemunex, Франція) в чашки Петрі за послідовних розведень 1x10<sup>-3</sup>, 1x10<sup>-4</sup>, 1x10<sup>-5</sup>, 1x10<sup>-6</sup> та культивували впродовж 72 год за температури 36,7±0,3°C. Колонії, що вирости, підраховували, після чого проводили розрахунок середньої кількості КЮ на 1,0 см<sup>3</sup>.

Одержані в результаті проведених досліджень дані математично обробляли статистичними методами [2].

#### Результати і їхнє обговорення

Підрахунок і подальше порівняння кількості КОУ *E. rhusiopathiae* у дослідних та контрольних зразках показало, що кореневі дифузати рогозу вузьколистого здійснюють стимулюючий вплив на популяції цих мікроорганізмів (див. таблицю). Ефект стимуляції найбільшою мірою виявлений у зразках із малим розведенням (1:10) корневих дифузатів піддослідного виду рослин. В середньому при цьому розведенні щільність клітин бактерій *E. rhusiopathiae* у дослідних зразках була у 19,69 разу більшою, ніж у контрольних.

Вміст *E. rhusiopathiae* у дослідних і контрольних зразках за впливу корневих дифузатів *T. angustifolia* (×10<sup>6</sup> КЮ / см<sup>3</sup>)

№ експерименту	Дослід (розведення виділень <i>T. angustifolia</i> )				Контроль
	1:10	1:100	1:1000	1:10 000	
1	163,90	30,80	10,80	9,30	8,60
2	175,20	28,70	10,20	8,70	9,20
3	171,50	33,10	11,40	8,90	8,80
4	168,70	35,00	10,70	9,60	8,50
5	177,60	29,40	10,90	8,80	9,00
6	175,10	33,80	11,30	9,50	8,30
<b>М*</b>	<b>172,00</b>	<b>31,80</b>	<b>10,88</b>	<b>9,13</b>	<b>8,73</b>
Для розведення 1:10 t=72,01 при t <sub>кр</sub> =4,59; P≤0,001					
Для розведення 1:100 t=20,12 при t <sub>кр</sub> =4,59; P≤0,001					
Для розведення 1:1000 t=8,77 при t <sub>кр</sub> =4,59; P≤0,001					
Для розведення 1:10 000 t=1,76 при t <sub>кр</sub> =2,23; P≤0,05					

**Примітка:** М – середнє арифметичне; t – коефіцієнт Стьюдента; t<sub>кр</sub> – критичне значення параметра t; P – рівень ймовірності.

У серії дослідів із розведенням корневих дифузатів рогозу вузьколистого в 1:100 та 1:1000, показник стимулюючого впливу у популяціях бактерій *E. rhusiopathiae* помітно знижувався, щільність клітин була відповідно у 3,64 та 1,25 разу більшою, ніж у контролі. Однак, як показали результати статистичної обробки даних, у зразках із розведенням ви-

ділень 1:10 000 різниця у щільності клітин еризипелотриксів у дослідних і контрольних зразках не була достовірною, що свідчить про відсутність впливу.

Таким чином, результати, одержані при проведенні експериментів, вказують, що патогенні бактерії *E. rhusiopathiae* зазнають виразного стимулюючого впливу з боку рогозу вузьколистого через виділення останнім у середовище біологічно активних речовин. Визначення кореляційного зв'язку за допомогою коефіцієнта кореляції ( $r$ ) доводить, що між вмістом прижиттєвих виділень рослин у середовищі та кількістю бактерій піддослідного виду є прямий (високий) зв'язок ( $r=1,00$ ).

У природі у разі взаємодії патогенних бактерій *E. rhusiopathiae* з *T. angustifolia* виникає топічний тип міжвидових зв'язків, який проявляється через виділення рослиною у процесі життєдіяльності біологічно активних речовин, а отже, через зміну середовища існування *E. rhusiopathiae*.

Одержані результати дають підстави припустити, що в умовах прісноводних екосистем у формаціях рогозу вузьколистого патогенні бактерії *E. rhusiopathiae* знаходять досить сприятливі умови для свого існування. Кореневі виділення *T. angustifolia* не лише сприяють виживанню *E. rhusiopathiae*, але й дають можливість останнім значно збільшити свою кількість, що посилює загрозу зараження людей і тварин.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Борисович Ю. Ф., Кириллов Л. В. Инфекционные болезни животных: справочник. М.: Агропромиздат, 1987. 288 с.
2. Брандт З. Анализ данных. Статистические и вычислительные методы для научных работников и инженеров / пер. с англ. М.: Мир, ООО «Изд-во АСТ», 2003. 686 с.
3. Головка Э. А. Микроорганизмы в аллелопатии высших растений. К.: Наукова думка, 1984. 200 с.
4. Гродзінський А. М. Основи хімічної взаємодії рослин. К.: Наукова думка, 1973. 190 с.
5. Гулай О. В., Жукорський О. М. Біотичні зв'язки патогенних бактерій *Erysipelothrix rhusiopathiae* та синьозелених водоростей *Microcystis pulverea* // Біологія тварин. 2013. Т. 15. № 3. С. 9–16.
6. Гулай О. В., Жукорський О. М. Формування екологічних зв'язків *Erysipelothrix rhusiopathiae* з *Riccia fluitans* у гідробіоценозах // Рибогосподарська наука України. 2013. № 4. С. 17–24.
7. Доброчаева Д. Н., Котов М. И., Прокудин Ю. Н. и др. Определитель высших растений Украины. К.: Наукова думка, 1987. 546 с.
8. Литвин В. Ю., Гинцбург А. Л., Пушкарева В. И. и др. Эпидемиологические аспекты экологии бактерий. М.: Фармарус – Принт, 1998. 255 с.
9. Пушкарева В. И., Литвин В. Ю., Ермолаева С. А. Растения как резервуар и источник возбудителей пищевых инфекций // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2012. № 2. С. 10–20.
10. Садчиков А. П., Кудряшов М. А. Гидробиология: прибрежно-водная растительность. М.: Академия, 2005. 240 с.
11. Сомов Г. П., Литвин В. Ю. Сапрофитизм и паразитизм патогенных бактерий: экологические аспекты. Новосибирск: Сиб. отд. Наука, 1988. 203 с.
12. Чорна Г. А. Рослини наших водойм. К.: Фітосоціоцентр, 2001. 134 с.
13. Ovod A. A., Pushkareva V. I., Ermolaeva S. A. Vegetale crops as a model for studying polyhostality *Listeria monocytogenes* // 1<sup>st</sup> International scientific conferens. Vienna, 2013. P. 105–112.

14. Zhukorskiy O. M., Gulay O. V., Gulay V. V., Tkachuk N. P. Changes in the population density of pathogenic microorganisms in response to the allelopathic effect of *typha latifolia* // Agricultural Sciens and Practice. 2014. N 1. P. 31–36.

Стаття: надійшла до редакції 25.06.14

доопрацьована 28.10.14

прийнята до друку 17.11.14

#### THE IMPACT OF *TYPHA ANGUSTIFOLIA* LIFETIME ROOT EXUDATES ON *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE* PATHOGENIC BACTERIA

A. Hulai

*Vynnychenko State Pedagogical University of Kirovograd*  
1, Shevchenko St., Kirovograd 25006, Ukraine  
e-mail: ol.gulay@rambler.ru

Lifetime *in vitro* root exudates of narrow-leaved cattail have a stimulating effect on the populations of *Erysipelothrix rhusiopathiae* VR-2 var. IVM pathogenic bacteria. The degree of the stimulating effect depends on the concentration of lifetime root exudates in the samples of the experimental plant species. In the natural environment, the topical type of interspecies relationship occurs in case of *E. rhusiopathiae* pathogenic bacteria and *Typha angustifolia* interaction. In freshwater ecosystems, formations of narrow-leaved cattail may create favorable conditions for the existence of *E. rhusiopathiae* pathogenic bacteria.

*Keywords:* *Typha angustifolia*, environmental impact, *Erysipelothrix rhusiopathiae*.

#### ВЛИЯНИЕ ПРИЖИЗНЕННЫХ ВЫДЕЛЕНИЙ *TYPHA ANGUSTIFOLIA* НА ПАТОГЕННЫЕ БАКТЕРИИ *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE*

А. Гулай

*Кировоградский государственный педагогический университет*  
*имени Владимира Винниченко*  
ул. Шевченко, 1, Кировоград 25006, Украина  
e-mail: ol.gulay@rambler.ru

Прижизненные выделения *Typha angustifolia in vitro* стимулируют воздействие на патогенные бактерии *Erysipelothrix rhusiopathiae* VR-2 var. IVM. Выраженность стимулирующего эффекта напрямую зависела от концентрации в образцах прижизненных выделений подопытного вида растений. В природе в случае взаимодействия патогенных бактерий *E. rhusiopathiae* с *Typha angustifolia* возникает топический тип межвидовых связей. В условиях пресноводных экосистем в формациях рогоза узколистого могут складываться благоприятные условия для существования патогенных бактерий *E. rhusiopathiae*.

*Ключевые слова:* *Typha angustifolia*, экологическое влияние, *Erysipelothrix rhusiopathiae*.