

УДК 579.262

UDC 579.262

03.00.00 Биологические науки

Biological sciences

**МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА  
ФИЛЛОСФЕРЫ НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЙ  
СЕМЕЙСТВА GROSSULARIACEAE****MICROBIAL COMMUNITIES OF  
KARPOSPHAERA AND PHILLOPLAN OF  
SOME PLANTS OF GROSSULARIACEAE  
FAMILY**

Ерина Надежда Викторовна

Erina Nadezhda Viktorovna

Коптева Татьяна Сергеевна  
ФГАОУ ВПО Северо-Кавказский федеральный  
университет, Россия

Kopteva Tatiana Sergeevna  
Northern Caucasus Federal University, Russia

В статье представлены результаты изучения состава микрофлоры филлоплана, карпосферы и поверхности цветков *Ribes nigrum*, *R. niveum*, *R. rubrum* и *Grossularia reclinata*. Исследования проводили в сезонной динамике с 2007 по 2014 год. Для выделения микроорганизмов изучаемых растений использовали метод отпечатка. Для удобства расчетов и сравнения обсемененности различных экологических ниш растений количество выделенных микроорганизмов пересчитывали в расчете на 1 см<sup>2</sup> поверхности. Установлено, что микроорганизмы на поверхности листовой пластинки распределены неравномерно. На нижней поверхности количество во все периоды оказалось выше. Наибольшее количество микроорганизмов филлоплана зафиксировано в осенние месяцы и достигает максимального значения в октябре. Содержание микроорганизмов на карпосфере увеличивалось по мере созревания плодов и максимального значения достигло в июле. Обсемененность цветков заметно меняется на протяжении цветения растений, в сравнении с другими нишами растений представлена минимально. Проведенное исследование позволило выявить видоспецифичность микроорганизмов и растений-хозяев. В то же время, длительное изучение микрофлоры растений, относящихся к одному семейству позволило выявить виды – типичные эпифиты

The article presents the results of the research of microflora composition of the leaf surface, the surface of fruit and flowers of *Ribes nigrum*, *R. niveum*, *R. rubrum* and *Grossularia reclinata*. The research was carried out in the seasonal dynamics from 2007 to 2014. The authors used the method of print for isolating microorganisms from plants. For convenience of calculations and contamination comparison of different environmental niches of plants the number of selected microorganisms was counted on the surface of 1 cm<sup>2</sup>. It was found out in the article that microorganisms on the surface of lamina are distributed unequally. The number of microorganisms on the bottom surface of the foliage in all periods turned out to be higher. The greatest number of microorganisms was recorded in autumn and reaches the highest value in October. The number of microorganisms on fruit surface increased with ripening and was the highest in July. The quantity on the flowers varies considerably throughout the flowering and is represented minimally compared to other plants niches. The study revealed species-specificity of microorganisms and the host plants. At the same time, long-term study of the microflora of plants belonging to one family made it possible to reveal species that are typical epiphytes

Ключевые слова: ФИЛЛОПЛАН, КАРПОСФЕРА, ЭПИФИТНАЯ МИКРОФЛОРА, ЭПИФИТНЫЕ БАКТЕРИИ, ЭПИФИТНЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ, ЭПИФИТНЫЕ ДРОЖЖИ, ЧЕРНАЯ СМОРОДИНА, БЕЛАЯ СМОРОДИНА, КРАСНАЯ СМОРОДИНА, КРЫЖОВНИК

Keywords: SURFACE OF LEAF, SURFACE OF FRUIT, EPIPHYTIC MICROFLORA, EPIPHYTIC BACTERIA, EPIPHYTIC MICROMYCETES, EPIPHYTIC YEAST, BLACK CURRANTS, WHITE CURRANTS, RED CURRANTS, GOOSEBERRIES

Поверхность растений заселена огромным числом микроорганизмов. Количество микроорганизмов, обнаруживаемых на поверхности листьев составляет порядка 10<sup>8</sup> клеток на грамм свежих листьев, или 10<sup>6</sup> на 1 см<sup>2</sup>,

что вполне сопоставимо с численностью микроорганизмов в почве. Ассоциации микробов с растениями могут быть благоприятными или неблагоприятными - вызывающим болезни, увядания и гибель растения [1].

Часть эпифитных микроорганизмов попадает из ризосферы, часть заносится с пылью и насекомыми. Эпифитные микроорганизмы размножаются на поверхности почек, цветков, стеблей, листьев, плодов, семян. Они питаются продуктами экзосмоса растений. Условия жизни эпифитных микроорганизмов своеобразны. Они довольствуются небольшими запасами питательных веществ на поверхности растений, устойчивы к высоким концентрациям фитонцидов, выдерживают периодические колебания влажности, на развитие микроорганизмов решающее влияние оказывают влажность и температура[2].

Поскольку каждый из органов растений представляет особую эконишу по отношению к поселяющимся там микроорганизмам, используют термины, определяющие эти ниши: филлосфера - надземные части растений, геммисфера - почки растений, спермосфера - семена, филлоплан - поверхность листьев, карпосфера - плоды и семена [3].

Способность адаптироваться к неблагоприятным условиям среды путем объединения с симбиотическими микроорганизмами – неотъемлемое свойство растительной формы жизни, без учета которого невозможно изучение экологии растений.

Изучение эпифитной микрофлоры в большинстве случаев связано с проблемами фитопатологии, в то время как состав нормофлоры растений остается недостаточно изученным.

**Целью исследования** было изучение микробных сообществ эпифитной микрофлоры разных экониш здоровых растений семейства Крыжовниковые (*Grossulariaceae*).

Для решения поставленной цели были определены задачи:

- Изучение состава микробных сообществ растений семейства *Grossulariaceae*;
- Анализ состава микробных сообществ филлоплана, карпосферы и поверхности цветков и выявление наиболее распространенных микроорганизмов;
- На основе выявленных составов микрофлоры различных экологических ниш изучаемых растений определены закономерности распределения и видовой специфичности растений и микроорганизмов;
- Выявление сезонной динамики составов и количества микроорганизмов филлосферы изучаемых растений.

### ***Материалы и объекты исследований***

Исследования проводились в 2007-2014 гг. на базе лаборатории кафедры ботаники, зоологии и общей биологии СКФУ в весенний, летний и осенний периоды. Для проведения работы был выбран опытный участок в г. Ставрополе, на котором все исследуемые растения выращивали в идентичных условиях.

В качестве объектов исследования послужили микроорганизмы, выделенные с поверхностей листьев растений семейства *Grossulariaceae*: *Ribes nigrum* L., *R. niveum* Lindl., *R. rubrum* L. , *Grossularia reclinata* (L.)Mill..

Отбор проб проводили в сезонной динамике. Для оценки количественных показателей микроорганизмов филлоплана, карпосферы и поверхности цветков пользовались методом отпечатка. При проведении эксперимента посев осуществляли в 3-х кратной повторности.

Забор материала производили 1 раз в месяц при соблюдении правил транспортировки биологического материала, исключающих внешнюю контаминацию и обеспечивающих сохранность исходной микрофлоры. После посева культивировали микроорганизмы при температуре  $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,

37±2°C, 45±2°C в течение 2-9 суток на ГРМ – агаре, среде Сабуро, сусло-агаре, среде Чапека. Предварительный учет количества микроорганизмов проводили через 48 часов и окончательный учет через 5 суток. Идентифицировали штаммы проводили стандартными методами[4,5,6].

### ***Результаты исследований и их обсуждение***

На разных экологических нишах филлосферы разных видов растений создаются различные физико-химические и биотические условия, формируется эпифитная микрофлора различного состава, обеспечивающая оптимальный уровень питания и способствующая росту и развитию растений в неблагоприятных условиях окружающей среды.

#### ***1. Динамика количественных показателей микрофлоры филлоплана***

Для большего удобства анализа количественных данных, полученных в эксперименте, количество колоний, выделенных после отпечатка, пересчитывали на общую площадь листа. Таким образом, получали содержание микроорганизмов на 1 см<sup>2</sup>. Количественные показатели бактерий, выделенных с поверхности листовых пластинок растений семейства *Grossulariaceae*, представлены в табл. 1.

Анализ полученных данных показал, что количество микроорганизмов на поверхности молодых листьев (апрель, май) меньше, чем их содержание на более поздних стадиях их развития (июнь, июль). При этом наблюдается резкое увеличение количества микроорганизмов в сентябре и октябре, что можно объяснить изменением погодных условий и длительным взаимодействием с микрофлорой зрелых листьев.

На протяжении всего года сохраняется закономерность превышения количества микроорганизмов на нижней поверхности листовой пластинки в сравнении с верхней. Это обусловлено меньшим воздействием солнечной инсоляции, высоким увлажнением, пониженной температурой на нижнюю сторону листовой пластинки.

В то же время, для растений *Ribes nigrum* характерно меньшая обсемененность листьев, особенно выраженная на нижней поверхности листа. Это можно объяснить высоким содержанием эфирных масел в листовой пластинке. Морфологические особенности листа таковы, что железки, выделяющие масла в наибольшем количестве, находятся на нижней поверхности листа.

## **2. Состав микрофлоры филлоплана**

Видовой состав микрофлоры филлоплана наиболее разнообразен и представлен следующими видами микроорганизмов: *Pseudomonas chlororaphis*, *Ps. liquefaciens*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. fluorescens*, *Ps. putida*, *Ps. desmolytica*, *Escherichia coli*, *Erwinia amylovora*, *Pantoea agglomerans*, *Arthrobacter album*, *Arthrobacter flavescens*, *Kocuria rosea*, *K. rhizophila*, *Rhodococcus flavum*, *Sarcina maxima*, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis*, *Bac. megaterium*, *Bac. cereus*, *Bac. licheniformis*.

В связи с изменением водородного показателя в сторону кислотофильности на филлоплане увеличилась численность микроскопических грибов: *Mucor ramosissimus*, *Alternaria alternata*, *Penicillium sp.*.

Таблица 1.

**Количество микроорганизмов на поверхности филлоплана (среднее за 2007-2014 гг.)**

Растение	Количество колоний микроорганизмов на 1 см <sup>2</sup>													
	апрель		май		июнь		июль		август		сентябрь		октябрь	
	Верхняя поверхность	Нижняя поверхность	Верхняя поверхность	Нижняя поверхность	Верхняя поверхность	Нижняя поверхность	Верхняя поверхность	Нижняя поверхность	Верхняя поверхность	Нижняя поверхность	Верхняя поверхность	Нижняя поверхность	Верхняя поверхность	Нижняя поверхность
<i>Ribes rubrum</i>	3,35±0,18	4,93±0,33	4,5±0,22	5,13±0,26	5,2±0,26	5,84±0,18	5,14±0,19	5,78±0,14	5,61±0,1	6,17±0,24	9,55±0,34	10,35±0,37	10,04±0,44	11,33±0,49
<i>R. nigrum</i>	2,7±0,21	2,5±0,23	3,21±0,29	3,69±0,2	4,26±0,15	4,07±0,19	4,88±0,16	4,95±0,12	3,77±0,17	3,57±0,24	7,17±0,31	8,92±0,44	6,52±0,24	7,64±0,5
<i>R. niveum</i>	3,72±0,12	5,23±0,45	5,14±0,29	6,0±0,27	5,09±0,23	5,93±0,12	5,03±0,22	5,74±0,18	5,96±0,21	6,71±0,4	9,75±0,38	10,74±0,64	10,58±0,23	11,42±0,47
<i>Grossularia reclinata</i>	4,75±0,18	5,39±0,29	5,25±0,19	5,93±0,32	4,97±0,09	4,95±0,19	5,08±0,19	5,64±0,1	6,0±0,13	6,77±0,11	10,41±0,4	11,46±0,44	10,62±0,41	11,2±0,55

Микрофлора дрожжей и дрожжеподобных микроорганизмов представлена следующими видами: *Cryptococcus albidus*, *Rhodotorula rubra*, *Pullularia pullulans*.

Эпифитная микрофлора отдельных видов 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. На листьях формируется микробный комплекс, изменяющийся по мере развития растений и отличающийся определенным соотношением отдельных групп и видов микроорганизмов. В начале вегетации листья растений заселены главным образом бактериальным сообществом. На стареющих листьях повышается содержание дрожжей, грибов[7].

Изучение состава микрофлоры различных растений одного семейства показало, что представители микроорганизмов на различных растениях практически одинаковы. В то же время микрофлора растений *Ribes nigrum* характеризуется меньшим разнообразием и на поверхности листьев преобладают грамотрицательные неферментирующие палочки (*Pseudomonas spp.*), некоторые виды рода *Bacillus* (*Bacillus subtilis*, *Bac. cereus*), микромицеты выделялись только в сентябре и октябре, в крайне скудном количестве.

### **3. Микрофлора поверхности цветков**

Цветение смородины и крыжовника в климатических условиях г. Ставрополя приходится на апрель. Исследование состава и численности микрофлоры поверхности цветков проводили дважды (в начале цветения и ближе к завершению цветения). Для большего удобства анализа количественных данных, полученных в эксперименте, количество колоний, выделенных после отпечатка, пересчитывали на общую площадь цветка. Таким образом получали содержание микроорганизмов на 1 см<sup>2</sup>.

Данные, полученные при исследовании, отражены в таблице 2.

Таблица 2

**Количество микроорганизмов на поверхности цветков (среднее за 2007-2014 гг.)**

Растение	Апрель, начало цветения	Апрель, конец цветения
<i>Ribes rubrum</i>	1,6±0,09	5,6±0,17
<i>R. niveum</i>	2,2±0,11	4,9±0,14
<i>R. nigrum</i>	1,8±0,07	3,8±0,11
<i>Grossularia reclinata</i>	2,1±0,08	4,7±0,13

Особенность изучения микрофлоры цветков связана с физиологическими особенностями этого органа растения. В норме, при закладке цветка он стерилен и микрофлора цветка лишь частично зависит от микрофлоры самого растения. В большей степени состав микрофлоры зависит от микрофлоры, занесенной с других растений насекомыми-опылителями.

Обсемененность цветков микроорганизмами значительно меняется по мере опыления цветков насекомыми. В начале цветения цветок только заселяется микрофлорой, причем преобладают виды – типичные эпифитны (неферментирующие грамотрицательные палочки, бациллярная микрофлора). К концу цветения в составе микрофлоры встречаются виды, несвойственные для эпифитной микрофлоры (*Bacillus thurigiensis*, *Hafnia alvei*, *Streptococcus apis*, *Enterococcus faecalis*). В то же время для микрофлоры цветков характерно наибольшее разнообразие дрожжей: *Bullera sp.*, *Candida albicans*, *Cryptococcus albidus*, *Pichia farionosa*, *Pullularia pullulans*, *Metchnikowia puleherrima*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula glutinis*, *Sporobolomyces roseus*, *Zygosaccharomyces sp.*

Таким образом, разнообразие микрофлоры поверхности растений в период завершения цветения связано с активностью насекомых-опылителей, которые заносят нетипичную микрофлору.



### 3. Микрофлора карпосферы

Количество колоний, выделенных после отпечатка, пересчитывали на общую площадь плода. Таким образом вычисляли содержание микроорганизмов на 1 см<sup>2</sup>. Количественные показатели бактерий, выделенных с поверхности плодов растений семейства *Grossulariaceae* представлены в табл. 3.

**Количество микроорганизмов карпосферы (среднее за 2007-2014 гг.)**

*Таблица 3*

<i>Растение</i>	Количество колоний микроорганизмов на 1 см <sup>2</sup>		
	май	июнь	июль
<i>Ribes rubrum</i>	4,03±0,2	5,23±0,19	12,3±0,48
<i>R. nigrum</i>	4,6±0,18	5,71±0,24	13,02±0,53
<i>R. niveum</i>	4,3±0,13	5,58±0,23	12,91±0,61
<i>Grossularia</i>	3,2±0,08	4,01±0,15	10,23±159

Количество микроорганизмов карпосферы увеличивается по мере созревания плодов, что связано с физиологическими особенностями развития плодов растений семейства Крыжовниковые. Закладка плода происходит сразу после цветения, в условиях г. Ставрополя – в начале апреля. Дальнейшее развитие плодов происходит в наиболее благоприятных условиях для дрожжей (температура и влажность). Кроме того, эпифитные микроорганизмы являются эккрисотрофами и их наибольшее разнообразие на плодах позволяют предположить, что состав выделяемых плодами веществ наиболее оптимален для их развития.

Карпосфера представляет собой сложный объект для исследования, поскольку плоды каждого вида растения обладают рядом специфических свойств – время закладки плода и сроки созревания различны для каждого вида, физиологические особенности каждого вида растений накладывают свои особенности на состав микрофлоры карпосферы.

Микрофлора карпосферы представлена следующими видами бактерий: *Pseudomonas chlororaphis*, *Ps. liquefaciens*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. fluorescens*, *Ps. radiobacter*, *Ps. putida*, *Ps. desmolytica*, *Escherichia coli*, *Erwinia amylovora*, *Pantoea agglomerans*, *Arthrobacter album*, *Arthrobacter flavescens*, *Kocuria rosea*, *K. rhizophila*, *Rhodococcus flavum*, *Sarcina maxima*, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis*, *Bac. megaterium*.

Исследование состава эпифитных дрожжей выявило следующий состав: *Candida albicans*, *Cryptococcus albidus*, *Pullularia pullulans*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula glutinis*, *Sporobolomyces roseus*.

Микромицеты карпосферы представлены следующим составом: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Mucor racemosus*.

Исследование состава микрофлоры филлосферы растений семейства *Grossulariaceae* показало, что микрофлора поверхности цветков, филлоплана и карпосферы различна по составу и насыщенности. Наибольшее количество микроорганизмов характерно для филлоплана, причем сезонная динамика прослеживается на всех изученных растениях. Наибольшее количество микроорганизмов выявлено в сентябре и октябре. Установлены видовые отличия в составе и количестве микроорганизмов по отношению к растению-хозяину. Эпифитные микроорганизмы являются эккрисотрофами, то есть используют в качестве источника питания растительные экссудаты. Из этого следует, что на количество бактерий влияет степень зрелости растения - с возрастом микробное население на них увеличивается и видоспецифичность - количество эпифитных бактерий зависит от вида растения. До сих пор остается открытой тема видоспецифичности эпифитной микрофлоры. В нашем исследовании выявлена зависимость состава и количества микроорганизмов и растения-хозяина. Для растений черной смородины характерна физиологическая особенность – повышенная выработка эфирных масел, особенно выраженная на нижней поверхности листовой пластинки. Это приводит к

снижению обсемененности филлоплана и изменению состава микрофлоры на типичную эпифитную микрофлору (бактерии рода *Pseudomonas*, *Bacillus*).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Шили Б. Местообитание прокариот/ Б.Шили; перевод К.Л. Тарасова// Современная микробиология. Прокариоты. – 2005. – с.25-306.
2. Бабаджанова В.А. Калимбетова Р.Ю. Биологические особенности эпифитной (дрожжевой) микрофлоры в Каракалпакстане// Труды второй международной научно-практической конференции молодых ученых «Индикация состояния окружающей среды: теория, практика, образование»/.25-28 апреля 2013 года: сборник статей. – М.: ООО «Буки Веди», 2013.
3. Торопова, Г.В. Особенности жизнедеятельности комнатных растений в сезонной динамике по индикаторным симбиотрофным бактериям: Дис.... канд. биол. наук / Г.В. Торопова. – Москва, 2005. – 124 с.
4. Теппер, Е.З. Практикум по микробиологии / Е.З.Теппер, В.К. Шильникова, К.И. Переверзева. - М.: Колос, 1994. – 326 с.
5. Практикум по микробиологии: Учеб. Пособие для студ. высш. учеб. заведений/ А.И. Нетрусов, М.А.Егорова, Л.М.Захарчук и др., Под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.
6. Бабьева, И.П. Методы выделения и идентификации дрожжей / И.П. Бабьева, В.И. Голубев. – М.: Пищевая промышленность, 1979. 120 с.
7. Делова, Г.В. Ультратонкая структура слизистых капсул желтопигментных эпифитных бактерий / Г.В. Делова // Структурные и функциональные связи высших растений и микроорганизмов. – Новосибирск: Наука, 1977. – С. 189– 203.

#### REFERENCES

1. Shili B. Mestoobitanie prokariot/ B.Shili; perevod K.L. Tarasova// Sovremennaja mikrobiologija. Prokarioty. – 2005. – s.25-306.
2. Babadzhanova V.A. Kalimbetova R.Ju. Biologicheskie osobennosti jepifitnoj (drozhzhevoj) mikroflory v Karakalpakstane// Trudy vtoroj mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii molodyh uchenyh «Indikacija sostojanija okruzhajushhej sredy: teorija, praktika, obrazovanie»/.25-28 aprelja 2013 goda: sbornik statej. – M.: ООО «Buki Vedi», 2013.
3. Toropova, G.V. Osobennosti zhiznedejatel'nosti komnatnyh rastenij v sezonnoj dinamike po indikatornym simbiotrofnym bakterijam: Dis.... kand. biol. nauk / G.V. Toropova. – Moskva, 2005. – 124 s.
4. Tepper, E.Z. Praktikum po mikrobiologii / E.Z.Tepper, V.K. Shil'nikova, K.I. Pereverzeva. - M.: Kolos, 1994. – 326 s.
5. Praktikum po mikrobiologii: Ucheb. Posobie dlja stud. vyssh. ucheb. zavedenij/ A.I. Netrusov, M.A.Egorova, L.M.Zaharchuk i dr., Pod red. A.I. Netrusova. – M.: Izdatel'skij centr «Akademija», 2005. – 608 s.
6. Bab'eva, I.P. Metody vydelenija i identifikacii drozhzhej / I.P. Bab'eva, V.I. Golubev. – M.: Pishhevaja promyshlennost', 1979. 120 s.

7. Delova, G.V. Ul'tratonkaja struktura slizistyh kapsul zheltopigmentnyh jepifitnyh bakterij / G.V. Delova // Strukturnye i funkcional'nye svjazi vysshih rastenij i mikroorganizmov. – Novosibirsk: Nauka, 1977. – S. 189– 203.