

## THE INFLUENCE OF ROOT DIFFUSATES OF REED GRASS ON THE POPULATION OF PATHOGENIC BACTERIA

O. Zhukorskiy<sup>1</sup>, O. Gulay<sup>2</sup>, V. Gulay<sup>3</sup>, N. Tkachuk<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Національна академія аграрних наук України

<sup>2</sup> Інститут агроекології і природокористування НААН

<sup>3</sup> Кіровоградський державний педагогічний університет імені Володимира Винниченка

Кореневі дифузати очерету звичайного (*Phragmites communis*) у розведеннях 1:10 та 1:100 стимулювали розмноження бактерій *Erysipelothrix rhusiopathiae*. У розведенні виділень 1:1000 явного впливу на популяції бактерій не виявлено. За дії корневих виділень *P. communis* щільність популяцій *Leptospira interrogans* досліджуваних серологічних варіантів змінювалась неоднаково. У дослідних зразках щільність лептоспір серологічних варіантів *L. canicola*, *L. rotomna*, *L. kabura* та *L. grippotyphosa* була нижчою, ніж на контролі. Популяції *L. rollonica* та *L. tarassovi* виявились не чутливими до впливу корневих виділень *P. communis*. Щільність популяцій *L. icterohaemorrhagiae* при дії корневих виділень очерету звичайного зростала.

**Ключові слова:** *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Leptospira interrogans*, кореневі дифузати, *Phragmites communis*, щільність популяцій.

Important condition for intensive modern agricultural production practices is the prophylaxis on the occurrence of infectious diseases, appearance of which could cause significant economic losses.

There are considerable difficulties in natural and focal diseases control, pathogens of which for a long time exist in certain territories and places thus creating a constant threat of disease outbreaks. One of such disease is erysipelas (*Erysipelas*) pathogen of which is bacterium *Erysipelothrix rhusiopathiae* (Migula, 1900) and also leptospirosis (*Leptospiriosis*) – pathogens of spirochete *Leptospira interrogans* ((Stimson, 1907) Wenyon, 1926) widely-spread in the objects of external environmental (soil, water reservoirs) from where they penetrated into the organisms of animals and humans [1].

Pathogenic bacteria interact with a wide range of living organisms during the existence in the objects of external environmental. The consequence of these interactions for *E. rhusiopathiae* and *L. interrogans* could be the increase of population density, prolongation of survival times as a result of what natural focus of diseases arises, or on the contrary –

an inhibition, density decrease and disappearance of pathogens.

At present we know quite a bit about the peculiarities of ecological linkages of pathogenic bacteria with components of ecosystems, especially with plants. Phytocenosis plays a crucial importance in the formation and existence of microbial groupings as well as affects the structure of zoocenosis significantly.

In view of this for the correct understanding the peculiarities of formation and functioning of the natural focus of infectious diseases it is necessary to have information about the influence and importance of plants for the existence and survival of bacteria *E. rhusiopathiae* and spirochetes *L. interrogans* in the objects of external environmental.

It is proved that microorganisms interact with higher plants through biological active substances that are secreted by microflora and roots [2].

### MATERIALS AND METHODS

The influence of root diffusates of common reed grass (*Phragmites communis*, Trinius, 1820) on the population density of pathogenic bacteria *E. rhusiopathiae* and spirochetes *L. interrogans* was investigated.

Specimens of common reed grass were collected from the natural growth stations (river Inhul). The roots were washed from the substrate and the plants were placed into plastic capacity filled with water taken from the water supply. After 5 days after the reparing of damaged roots, the water was completely changed, and the ratio of the plants mass to water amounted to 1:10.

The exposition for getting root diffusates was 7 days, with natural daily range of temperature and light intensity. Received solution with common reed grass dilution was sterilized by passing through bacterial cellulose filters with pore diameter of 0.2 microns.

Test cultures of bacteria *E. rhusiopathiae* were grown on brain and heart broth (AES Chemunex, France) at the temperature of  $36.7 \pm 0.3^\circ\text{C}$  for 48 hours. Test specimens contained the solutions of root diffusates in the ratio of 1:10, 1:100, 1:1000 in the amount of  $0.9 \text{ cm}^3$  to  $0.1 \text{ cm}^3$  to which bacterial cultures *E. rhusiopathiae* were added.

Control samples contained analogous ratio of sterilized water from the water supply and cultures of erysipelothrixes. The experiment was carried out with 6-fold frequency. The test and control samples were stored at room temperature ( $+18... +20^\circ\text{C}$ ) for 48 hours.

Calculation of population density of erysipelothrixes was carried out by seeding of samples in successive dissolution  $1 \times 10^{-3}$  and  $1 \times 10^{-4}$  of  $0.1 \text{ cm}^3$  on the surface of brain and heart agar (AES Chemunex, France) in three

Petri dishes and culturing them at the temperature of  $(36.7 \pm 0.3)^\circ\text{C}$  for 72 hours, followed by colonies counting that had grown up, and the calculation of the average number of live bacteria on  $1 \text{ sm}^3$ .

Test cultures of spirochetes *L. interrogans* were grown on medium of Terskyh (Терських) with 5% content of rabbit blood serum at the temperature of  $+28 \pm 0.3^\circ\text{C}$ . In experiments a set of the diagnostic strains of leptospiras was used (Table 1).

In the experiments to study the effects of root diffusates of common reed grass on spirochetes populations *L. interrogans* in test tubes  $0.4 \text{ cm}^3$  solution obtained for testing was applied and  $0.1 \text{ cm}^3$  of leptospiras cultures was added. Control was similar ratio of distilled water and leptospiras cultures. Inocula for the control and test samples were selected from the same of parent culture.

Thus, the initial density of leptospiras in the samples was the same. Density of leptospiras cultures after 24 hours from the moment of beginning the experiment by the method of direct counting of leptospiras in well-known volume by method of Samostrel'sky was determined [3]. To estimate the expressiveness of impact biologically active secretions of plants on the spirochetes cultures were used indicators that have been suggested [4].

## RESULTS AND DISCUSSION

Analysis of the obtained results showed that in small volume dilution 1:10 of root

Table 1

**The list of strains of *Leptospira interrogans* used in the studies on the influence of root diffusates of common reed grass**

No. s/n	Serological group	Serological variant	Strain	Abbreviations
1	Sejroe	pollonica	493 Poland	<i>L. pollonica</i>
2	Hebdomadis	kabura	Kabura	<i>L. kabura</i>
3	Tarassovi	tarassovi	Perepelicyн	<i>L. tarassovi</i>
4	Pomona	pomona	Pomona	<i>L. pomona</i>
5	Grippotyphosa	grippotyphosa	Moskva V	<i>L. grippotyphosa</i>
6	Canicola	canicola	Hond Utrecht IV	<i>L. canicola</i>
7	Icterohaemorrhagiae	copenhageni	M 20	<i>L. icterohaemorrhagiae</i>

diffusates of common reed grass carry out an extremely strong stimulating effect on experimental populations of bacteria *E. rhusiopathiae*.

Erysipelothrix cell density in the experimental samples was higher than in control in 40.5 times. At higher dilution stimulating effect also was marked but in a smaller extent. So in the experimental samples with dilution 1:100 of root diffusates of common reed grass the erysipelothrix density exceeded this control indicator in 5.7 times. At the same time even when dilution 1:1000 of root diffusates statistically significant difference between the erysipelothrix density in the experiment and control is not found (Table 2).

The reaction of pathogenic leptospira populations to the impact of root diffusates of common reed grass differed and depended on serological variant of spirochetes (Table 3).

Thus in the experimental samples of *L. canicola* and *L. pomona* cell density was lower than in control by 61.38% and 63.86% respectively. Somewhat lower was inhibiting effect

of common reed grass on populations of *Reed L. kabura* and *L. grippotyphosa* cell density in the experimental samples was lower than in control by 35.10% and 24.80% respectively. Population density of *L. pollonica* and *L. tarassovi* in the experimental and control samples hardly differed, indicating a considerable spirochetes stability of these serological variants to the impact of dilution of common reed grass.

Studies have found that root diffusates of common reed grass carried out not only an inhibiting effect on the population of spirochetes. In the experimental samples with populations of *L. icterohaemorrhagiae* cell density was higher by 38.30% than in controls. The detected differences in reaction of pathogenic leptospiras populations of different variants on influence of common reed grass indicate to the considerable ecological plasticity of this species of spirochetes.

Similar differences in sensitivity of different strains on the impact of antibiotics for 10 bacterial species are presented [5].

Table 2

**Comparison of cell density *E. rhusiopathiae* in the experimental and control samples under the conditions of influence of root diffusates of *P. communis***

No. of sample	Cell density <i>E. rhusiopathiae</i> , mln/cm <sup>3</sup>			
	Experiment (root diffusates dilution)			Control
	1:10	1:100	1:1000	
1	14.50	1.44	0.34	0.30
2	12.20	1.74	0.35	0.37
3	12.90	1.70	0.33	0.35
4	13.20	1.82	0.36	0.32
5	14.40	1.76	0.50	0.35
6	12.90	1.72	0.46	0.47
M*	<b>13.35</b>	<b>1.70</b>	<b>0.39</b>	<b>0.36</b>

In dilution 1:10  $t^{**} = 31.72$  with  $t_{cv}^{***} = 4.59$ ;  $P^{****} = 0.001$

In dilution 1:100  $t = 20.61$  with  $t_{cv} = 4.59$ ;  $P = 0.001$

In dilution 1:1000  $t = 0.72$  with  $t_{cv} = .59$ ;  $P = 0.001$

Hereinafter: M\* – mean; t\* – Student coefficient; \*\*\*  $t_{cv}$  – critical value of parameter t; P\*\*\*\* – level of probability.

Table 3

**Comparison of cell density *L.interrogans* in the experimental and control samples  
under the conditions of influence of root diffusates of *P. communis***

No. of sample	Density of leptospiras, mln.cell/cm <sup>3</sup>							
	<i>L. pollonica</i>		<i>L. kabura</i>		<i>L. canicola</i>		<i>L. pomona</i>	
	Experiment	Control	Experiment	Control	Experiment	Control	Experiment	Control
1	9.55	9.66	2.96	4.84	3.64	9.72	1.73	4.35
2	9.18	9.38	3.12	4.43	3.90	9.34	1.38	3.94
3	9.74	9.65	2.83	4.57	3.85	9.56	1.66	4.13
4	9.36	9.74	3.34	5.00	3.54	9.20	1.27	4.05
5	9.42	9.57	3.00	4.66	3.32	9.43	1.46	4.28
M	9.45	9.60	3.05	4.70	3.65	9.45	1.50	4.15
t	1.20		11.17		37.46		20.84	

$t_{kp} = 5.04; P = 0.001$

No. of sample	Density of leptospiras, mln.cell/cm <sup>3</sup>					
	<i>L. grippotyphosa</i>		<i>L. icterohaemorrhagiae</i>		<i>L. tarassovi</i>	
	Experiment	Control	Experiment	Control	Experiment	Control
1	3.64	5.20	6.38	4.40	2.08	2.15
2	4.32	5.37	6.75	4.65	1.74	2.33
3	3.83	5.44	6.27	4.93	1.63	1.98
4	4.05	4.89	6.46	4.74	2.10	2.00
5	3.91	5.35	6.64	4.78	1.95	2.29
M	3.95	5.25	6.50	4.70	1.90	2.15
t	7.74		13.05		1.90	

$t_{kp} = 5.04; P = 0.001$

### CONCLUSIONS

In the experiment water-soluble root exudates of common reed grass in small dilutions stimulated the growth of pathogenic bacterial of species *E. rhusiopathiae* as well as serological variant populations of leptospira *L. icterohaemorrhagiae*. Populations of other serological variants of species *L. interrogans* were not sensitive to the influence of common reed grass (*L. pollonica* and *L. tarassovi*) or have been inhibited by its root exudates (*L. canicola*, *L. pomona*, *L. kabura* and *L. grippotyphosa*).

This indicates that under natural conditions between the experimental species ecological relationships of topical type are formed. At the same time in the heavily clothed of common reed grass in the foreland on the banks of reservoirs, canals, meadow bogs favorable conditions for the existence and maintenance of high-density populations of pathogenic bacteria *E. rhusiopathiae* and serological variant of leptospira *L. Icterohaemorrhagiae* are created.

Detected patterns of ecological relationships between erysipelothrixes and leptospira

with common reed grass are necessary to be considered in making economic activities in reservoirs and overmoistened lands, especially considering the perspective of intensive use of coastal aquatic vegetation.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Борисович Ю.Ф. Инфекционные болезни животных: Справочник / Ю.Ф. Борисович, Л.В. Кириллов; под ред. Д.Ф. Осидзе. — М.: Агропромиздат, 1987. — 288 с.
2. Головкин Э.А. Микроорганизмы в аллелопатии высших растений / Э.А. Головкин. — К.: Наукова думка, 1984. — 200 с.
3. Самострельский А.Ю. Метод прямого счета лептоспир в определенном объеме / А.Ю. Самострельский // Лабораторное дело. — 1966. — № 2. — С. 105–108.
4. Гулай О.В. Вивчення біоценотичних зв'язків лептоспир з водними рослинами: Методичні рекомендації / О.В. Гулай. — Дніпропетровськ: ВФК «Оксамит-Прес», 2004. — 14 с.
5. Красильников Н.А. Антагонизм микробов и антибиотические вещества / Н.А. Красильников. — М.: Советская наука, 1958. — 338 с.

УДК 574:58.632:59.636

## ОЦІНКА БІОРІЗНОМАНІТТЯ ЕНТОМОФАУНИ В ЗОНІ РОЗТАШУВАННЯ ПТАХОФАБРИК

М.П. Кейван

*Інститут агроекології і природокористування НААН*

*Вивчено вплив виробництва продукції птахівництва на екологічний стан навколишнього природного середовища, а саме на біорізноманіття ентомофауни. Відзначено зменшення чисельності біологічного різноманіття угруповань комах. Отримані величини екологічних індексів свідчать про знижений рівень біологічного різноманіття та видового багатства на території санітарно-захисної зони птахофабрики. Індекс видового багатства Маргалефа на 25% менший на території санітарно-захисної зони господарства порівняно з контрольною ділянкою, а індекс видового різноманіття Шеннона на 12% відповідно. Отже, подальше скорочення видового різноманіття може призвести до швидкої деградації екосистем, прилеглих до підприємства.*

**Ключові слова:** птахофабрика, навколишнє природне середовище, ентомофауна, екологічні індекси.

Птахівництво — одна із розвинених галузей сільського господарства, що характеризується інтенсивним розвитком виробництва з утримання і відгодівлі птиці. Використання сучасних технологій збільшує вплив виробництва продукції птахівництва на навколишнє природне середовище [1–3].

Екологічна оцінка стану природних екосистем є одним із шляхів прогнозування змін у навколишньому природному середовищі в умовах інтенсифікації отримання продукції птахівництва [4, 5].

Важливою біотичною компонентою екосистеми є ентомокомплекс, що чутливо реагує на антропогенний вплив [6–8]. Біорізноманіття ентомофауни можна віднести до одних з об'єктивних показників стану довкілля та стійкості екосистем. Важливими екологічними особливостями формування ентомокомплексів є існування великої кількості видів та високі індекси видового різноманіття.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили впродовж 2009–2012 рр. Місце проведення — птахофабрика «Київська», Броварський р-н