

## МІКРОБІОТА ПИЛКУ БЕРЕЗИ БОРОДАВЧАСТОЇ (*BETULA VERRUCOSA* EHRL.) З РІЗНИХ МІСЦЬ ЗРОСТАННЯ

Т.В. ШЕВЦОВА, К.Г. ГАРКАВА

Національний авіаційний університет, м. Київ

*Досліджено сім зразків пилку берези бородавчастої з різних місць зростання на території України для виявлення його забруднення представниками родини Enterobacteriaceae, анаеробними мікроорганізмами та грибами. Встановлено, що кількість ентеробактерій коливалась в межах  $0-5,3 \cdot 10^4$  КУО/г пилку, анаеробних мікроорганізмів –  $0-28,3 \cdot 10^4$  КУО/г, грибів –  $1-5,3 \cdot 10^4$  КУО/г. Передбачається необхідним подальше вивчення мікробіоти пилку берези і її потенційної ролі у формуванні пилкової алергії.*

**Ключові слова:** *пилкок, береза бородавчата, ентеробактерії, анаеробні мікроорганізми, мікроскопічні гриби.*

**Вступ.** Хоча вплив факторів навколишнього середовища на етіологію і перебіг алергічних ринітів широко обговорюється, до цих пір мало уваги приділялося мікробіоті пилкових зерен. Незважаючи також на численні дослідження мікробіоти поверхонь різних частин рослин, недостатньо уваги приділено мікроорганізмам, які забруднюють пилок. Інформація з цього питання є неповною. Присутність мікроорганізмів на поверхні пилкового зерна була підтверджена методами скануючої електронної мікроскопії [5]. Роботами Colldahl H. та Carlsson G. [4] показано, що на поверхні пилку є типові для пилку гриби *Cryptococcus luteolus* та грамнегативні бактерії *Pseudomonas maltophilia*. Śpięwak та ін. показали, що грамнегативні бактерії *Pantoea agglomerans* (синоніми: *Erwinia herbicola*, *Enterobacter agglomerans*) присутні на пилкових зернах так само, як і ендотоксин – бактеріальний продукт їх життєдіяльності,

якому притаманні сильні імуномодельюючі властивості [10]. Ці ж автори досліджували пилок, який викликає алергічні прояви, у таких рослин як полин звичайний, ліщина звичайна, жито посівне, вільха чорна, а також пилок берези бородавчастої з різних місць зростання міста Кракова. Виявлено присутність як грам-позитивних, так і грам-негативних бактерій, термофільних актиноміцетів та різних видів грибів.

Таким чином, метою даної роботи було вивчити наявну мікробіоту на пилку берези бородавчастої.

**Матеріали та методи досліджень.** Було заготовлено сім зразків пилку *Betula verrucosa* Ehrh. до початку цвітіння. Для дослідження було обрано різні місця зростання з урахуванням техногенного навантаження на територію. Контрольними зонами слугували м. Переяслав-Хмельницький Київської обл. (пилок заготовлено з дерев, що зростають в парку-музеї) та с. Хоцьки Київської обл. (берези зростають на окремих полянах серед лісу). З житлових зон поблизу автомобільних доріг пилок заготовлено з наступних місць: м. Київ, м. Переяслав-Хмельницький, смт. Іванків Київської обл., який відноситься до III чорнобильської зони, м. Кузнецовськ Рівненської обл., що відноситься до IV чорнобильської зони. Також був заготовлений пилок у смт. Бородянка Київської обл. з дерев берези, які зростають поблизу аеродрому.

Концентрацію мікроорганізмів в зразках пилку визначали методом посіву на відповідні поживні середовища. 1 г пилку кожного зразка поміщали у ємність з 200 мл дистильованої води (розведення  $10^2$ ) і механічно перемішували впродовж 30 хв. Після енергійного перемішування були зроблені десятикратні серійні розведення до концентрації  $10^3$ . 1 мл суспензії у двох концентраціях в трикратній повторності було висіяно на відповідні поживні середовища для виявлення ентеробактерій, анаеробних мікроорганізмів та грибів.

Підрахунок колоній представників родини *Enterobacteriaceae* проводили через одну добу культивування на середовищі Ендо при температурі 37 °С, представників анаеробних бактерій – через 36 год. при температурі 30 °С на агарі для анаеробів, колонії грибів – через 54 год. при температурі 25 °С на агарі

Сабуро. Колонії грибів були ізольовані та ідентифіковані на рівні роду згідно з «Dictionary of the Fungi» [7]. Результати представлені як колонієутворюючі одиниці (КУО) на 1 г пилку.

**Результати та їх обговорення.** Результати підрахунку колоній мікроорганізмів, що забруднюють пилки берези бородавчастої наведено у таблиці 1. Кількість представників родини *Enterobacteriaceae* в досліджуваних зразках пилку коливалась в межах 0 – 53000 КУО/г пилку (рис. 1).

Таблиця 1

**Результати підрахунку колоній мікроорганізмів, що забруднюють пилки берези бородавчастої, КУО/г пилку**

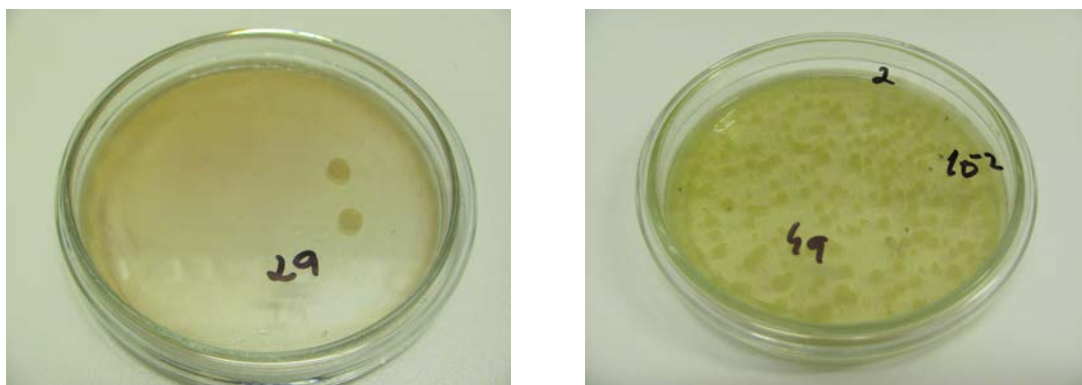
| № зразку | Місце збору пилку                 | Кількість ентеробактерій |                   | Кількість анаеробних мікроорганізмів |                   | Кількість грибів  |                   |
|----------|-----------------------------------|--------------------------|-------------------|--------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|          |                                   | Розведення $10^2$ *      | Розведення $10^3$ | Розведення $10^2$                    | Розведення $10^3$ | Розведення $10^2$ | Розведення $10^3$ |
| 1        | м. Київ                           | 1                        | 0                 | 8                                    | 0                 | 3                 | 38                |
| 2a       | м. Переяслав-Хмельницький (місто) | 105                      | 28                | 475                                  | 283               | 11                | 31                |
| 2b       | м. Переяслав-Хмельницький (парк)  | 2                        | 0                 | 61                                   | 1                 | 18                | 4                 |
| 3        | с. Хоцьки                         | 0                        | 0                 | 608                                  | 3                 | 138               | 53                |
| 4        | сmt. Іванків                      | 0                        | 0                 | 3                                    | 0                 | 17                | 4                 |
| 5        | м. Кузнецовськ                    | 35                       | 4                 | 81                                   | 10                | 8                 | 1                 |
| 6        | сmt. Бородянка                    | 146                      | 53                | 795                                  | 162               | 24                | 5                 |

**Примітка:** \* Розведення пилку в 100 і 1000 разів

Анаеробні бактерії виявилися більш численними порівняно з ентеробактеріями. Їх кількість знаходилась в межах 0 – 283000 КУО/г пилку (рис. 1).

І кількість ентеробактерій, і кількість анаеробних мікроорганізмів переважала в зразках пилку берези з м. Переяслав-Хмельницький (житлова зона поблизу автомобільної дороги) та з сmt. Бородянки. В пилку із контрольних зон

та смт. Іванків взагалі відсутні представники родини *Enterobacteriaceae*. Кількість анаеробних мікроорганізмів у зразках пилку берези майже відсутня в м. Києві та смт. Іванків.



а

б

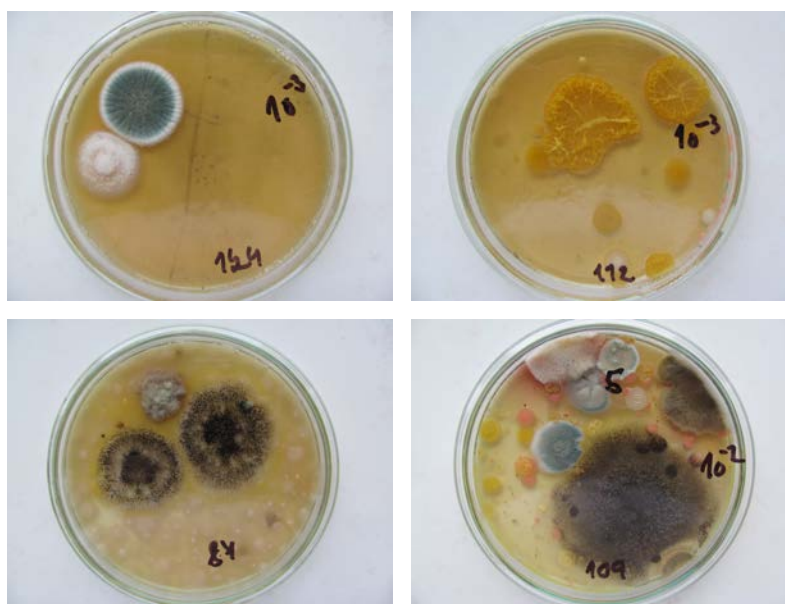
**Рис. 1. Колонії мікроорганізмів на чашках Петрі:**

**а – колонії *Enterobacteriaceae*; б – колонії анаеробних бактерій**

Кількість виявлених колоній грибів пилку берези коливалась в межах 1 – 53000 КУО/г пилку (рис. 2). Встановлено, що грибами найбільш забруднений зразок пилку із контрольної зони с. Хоцьки, що досить неочікувано, найменш забрудненим виявився зразок пилку берези із м. Кузнецовська. Нами показано, що мікроскопічні гриби були присутні в тих зразках пилку, де відсутні інші групи досліджуваних мікроорганізмів. Гриби були ідентифіковані як представники родів *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus* та *Cladosporium* (рис. 3).

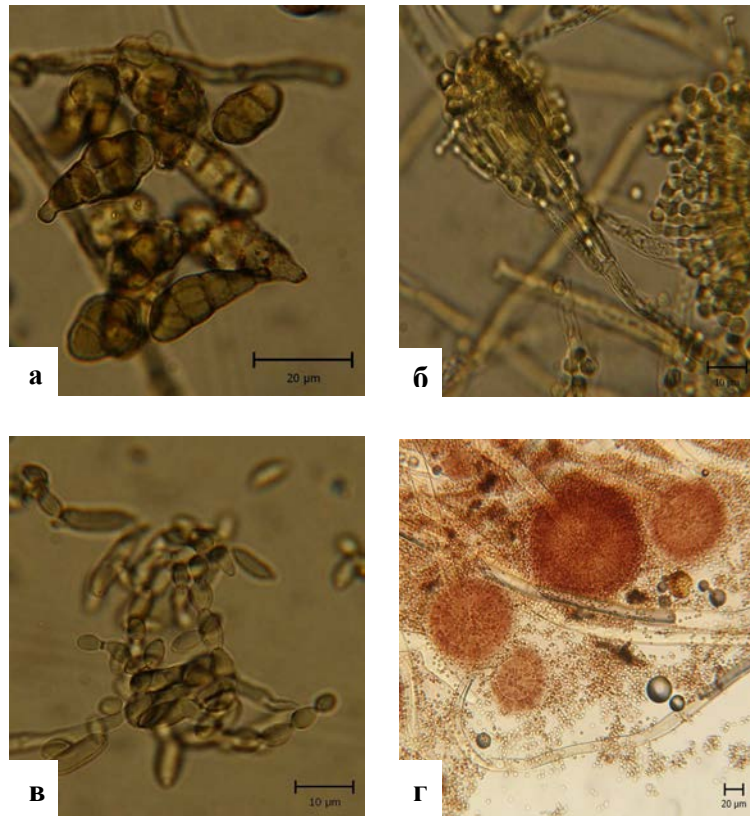
Поки не ясно, яким чином пилок був заражений виявленими мікроорганізмами. В природі пилок, ймовірно, може бути забруднений взаємодією з іншими біоаерозолями. Можливо забруднення відбувається ще до виходу пилку із пилкового мішку, але більш реально, що пилок забруднюється все-таки під час виходу із нього. Цікаво, що при дослідженні нами епіфітної мікрофлори бруньок берези бородавчастої, також було виявлено мікроскопічні гриби. Але навіть при забезпеченні контролю і стерильності в процесі досягання і падіння пилку вище згадані мікроорганізми [9] виявлялися на

пилкових зернах. Таким чином, необхідні подальші дослідження для виявлення шляхів мікробної контамінації пилку в природних умовах.



**Рис. 2. Колонії грибів, виявлені на пилку *Betula verrucosa* Ehrh.**

Не виключено, що частина алергічних симптомів, викликаних пилком берези, може бути пов'язана з наявністю мікроорганізмів та продуктів їх метаболізму на пилкових зернах. Хоча концентрація мікроорганізмів пилку значно менша порівняно з різноманітним органічним пилом, вони здатні індукувати певну відповідь після вдихання. Відомо, що навіть невелика кількість бактеріальних та грибових продуктів життєдіяльності може викликати алергічні чи імунотоксичні реакції [3]. Наприклад, ендотоксин, вироблений грамнегативними бактеріями, активує продукцію інтерлейкіну-1, фактору некрозу пухлин та інші цитокіни макрофагами, що ініціюють запальні процеси в дихальних шляхах [2]. Гриби та продукти їх життєдіяльності, подібно до бактерій, можуть викликати алергічні та імунотоксичні реакції. Наприклад, гриби, які належать до родів *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus* та *Cladosporium* володіють сильними алергенними властивостями [1, 6, 8]. Тим не менш, на основі попередньо отриманих даних важко сказати, що наявні частинки грибових спор або міцелію відіграють важливу роль у розвитку симптомів у пацієнтів, чутливих до пилку.



**Рис. 3** Ідентифіковані мікроскопічні гриби на пилку *Betula verrucosa* Ehrh.: а – *Alternaria spp.*; б – *Penicillium spp.*; в - *Cladosporium spp.*; г – *Aspergillus spp.*

## ВИСНОВКИ

1. На пилку берези бородавчастої виявлена змішана мікробіота, що складається з ентеробактерій, анаеробних мікроорганізмів та грибів.
2. Встановлено, що в тих зразках, де присутня велика кількість ентеробактерій та анаеробних мікроорганізмів, відсутні мікроскопічні гриби.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ганнибал Ф.Б. Токсигенность, аллергенность и таксономия грибов рода *Alternaria* / Ф.Б. Ганнибал // Успехи медицинской микологии. – Т. 1. – гл. 5. – С. 189-190.
2. Burrell R. Human immune toxicity / R. Burrell // Molec. Aspects Med. – 1993. – №14. – Р. 1-81.

3. Burrell R. Immunotoxic reactions in the agricultural environment / R. Burrell // Ann Agric. Environ. Med. – 1995. – №2. – P. 11-20.
4. Colldahl H. Allergens in pollen / H. Colldahl, G. Carlsson // Acta Allergol. – 1968. – №23. – P. 387-395.
5. Colldahl H. Possible relationship between some allergens (pollens, mites) and certain microorganisms (bacteria and fungi) / H. Colldahl, L. Nilsson // Acta Allergol. – 1973. – №28. – P. 283-295.
6. Dziadzio L. Assessment and control of fungal allergens / L. Dziadzio, R. Bush // Current Allergy and Asthma Reports. – 2001. – №1. – P. 455-460.
7. Kirk P. Dictionary of the Fungi / Kirk P., Cannon P., Stalpers J. – 10<sup>th</sup> edition. – Wallingford, UK: CABI Publishing, 2001. – 784 p.
8. Middleton E. Allergy: Principles & Practice / Middleton E. – 5<sup>th</sup> edition. – St. Louis: CV Mosby, 1998. – 1249 p.
9. Śpiewak R. Microflora of allergenic pollens – a preliminary study / Śpiewak R., Krysińska-Traczyk E., Sitkowska J., Dutkiewicz J. // Ann. Agric. Environ. Med. – 1996. – №3. – P. 127-130.
10. Śpiewak R. Bacterial endotoxin associated with pollen as a potential factor aggravating pollinosis / Śpiewak R., Skórska C., Prażmo Z., Sitkowska J., Dutkiewicz J. // Ann. Agric. Environ. Med. – 1996. – №3. – P. 63-66.

***Микробиота пыльцы березы бородавчатой (*Betula verrucosa* Ehrh.) с  
разных мест произрастания***

***Т.В. ШЕВЦОВА, Е.Г. ГАРКАВАЯ***

*Национальный авиационный университет, г. Киев*

*Было исследовано семь образцов пыльцы березы бородавчатой из разных мест произрастания на территории Украины для выявления его загрязнения представителями семейства *Enterobacteriaceae*, анаэробными микроорганизмами и грибами. Установлено, что количество энтеробактерий*

колебалось в пределах  $0-5,3 \cdot 10^4$  КОЕ/г пыльцы, анаэробных микроорганизмов –  $0-28,3 \cdot 10^4$  КОЕ/г, грибов –  $1-5,3 \cdot 10^4$  КОЕ/г. Предполагается необходимым дальнейшее изучение микробиоты пыльцы березы и ее потенциальной роли касательно пыльцевой аллергии.

**Ключевые слова:** пыльца, береза бородавчатая, энтеробактерии, анаэробные микроорганизмы, микроскопические грибы.

### ***Microflora of silver birch pollen (*Betula verrucosa* Ehrh.) from different habitats***

T.V. SHEVTSOVA, K.G. GARKAVA

*National Aviation University, Kyiv*

*Seven samples of silver birch pollen from different habitat of Ukraine were investigated in order to estimate their contamination with the Enterobacteriaceae family, anaerobic bacteria and fungi. It is established the concentrations of enterobacteria ranged from 0 to  $5,3 \cdot 10^4$  cfu/g, of anaerobic bacteria – 0 to  $28,3 \cdot 10^4$  cfu/g and concentration of fungi ranged from 1 to  $5,3 \cdot 10^4$  cfu/g. It is suggested that further study of the microflora of birch pollen and its potential role in pollen allergy is needed.*

**Key words:** *pollen, silver birch, enterobacteria, anaerobic bacteria, fungi.*