

УДК 579.869.1:635

DOI 10.26897/0021-342X-2017-6-56-67

ОСОБЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИОННОЙ ДИНАМИКИ ПСЕВДОМОНАД И ЛИСТЕРИЙ В АССОЦИИ С КАЛЛУСАМИ ЗЕЛЕННЫХ КУЛЬТУР

А.А. ОВОД, Г.В.ГОДОВА, Е.А. КАЛАШНИКОВА

(РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева)

Изучена популяционная динамика бактерий рода *Pseudomonas* (*Ps. aeruginosa* и *Ps. fluorescens*) и *Listeria monocytogenes* EGD при взаимодействии с каллусами листового салата и базилика *in vitro*. В результате экспериментов были установлены отличительные особенности поведения бактерий в ассоциации с различными зелеными культурами. При взаимодействии с каллусами листового салата численность изучаемых штаммов бактерий на протяжении всего опыта увеличивалась. Максимум был отмечен при заражении *Ps. aeruginosa* – 7,6 lg КОЕ/г. Популяционная динамика инфицированных каллусов выявила различия между штаммами вирулентных и сапротрофных бактерий в ассоциации с базиликом, фитонцидные свойства которого несколько снижают численность *Ps. aeruginosa* и *L.monocytogenes* до 6–6,5 lg КОЕ/г в конце опыта при максимуме 6,6–6,8 lg КОЕ/г на 3-и сутки исследований. Между сапротрофными псевдомонадами и каллусами базилика в течение периода наблюдений установились положительные симбиотические отношения, при которых бактерии не оказывали токсического воздействия на рост и морфологические особенности каллусов; отмечено некоторое увеличение численности *Ps.fluorescens*.

Идентификация выделенных из модельных растений изолятов осуществлялась с помощью окраски по Граму, биохимических тестов и ПЦР. При определении бактерий рода *Pseudomonas* также использовали посевы на среду для выявления пигмента пиоцианина.

Взаимодействие патогенных листерий и синегнойных палочек с каллусными культурами выявило характер взаимоотношений по типу «паразит – хозяин» с последующим некрозом и гибелью модельных растений. Контаминация зеленых культур вирулентными *L. monocytogenes* и *Ps. aeruginosa* представляет потенциальную эпидемиологическую угрозу.

Ключевые слова: динамика численности бактерий, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Listeria monocytogenes*, пищевые инфекции, каллусы зеленых культур.

Микробно–растительные ассоциации являются основой поддержания жизни на нашей планете. Известно, что почвенные микроорганизмы играют важную роль в формировании плодородия почвы и участвуют в питании растений. Растения произрастают в среде, заселенной большим числом различных микроорганизмов [3]. В связи с этим, между макро– и микроорганизмами возникают взаимоотношения, носящие характер либо положительного симбиоза (т.е. они обоюдно полезны и растениям, и микроорганизмам), либо

разрушительного паразитизма, способного причинить вред не только организму-хозяину, но и, используя трофические цепи, другим организмам. Пребывание патогенов человека в растениях является частью цикла их циркуляции во внешней среде. Вероятно, они используют растения в качестве альтернативного хозяина и переносчика в организм животного или человека [6,20].

Особенный интерес микробиологов, специалистов медицинского профиля, эпидемиологов вызывают взаимоотношения условно-патогенных и патогенных микроорганизмов с зелеными и овощными культурами, не подвергающимися тепловой обработке и представляющими опасность для жизни и здоровья человека.

Цель работы – определить популяционную динамику бактерий рода *Pseudomonas* (*Ps. aeruginosa* и *Ps. fluorescens*) и *Listeria monocytogenes* при взаимодействии с каллусами листового салата и базилика в условиях *in vitro*.

Ps. aeruginosa (синегнойная палочка) являются грамотрицательными палочковидными бактериями, одними из основных возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний человека [1,15]. Такие инфекции характеризуются длительным течением и сложностью лечения, что связано с природной или приобретенной устойчивостью возбудителя к антибиотикам [14,18]. Хорошая сопротивляемость этих возбудителей действию терапии связана с формированием устойчивых к факторам окружающей среды биопленкам [19]. Синегнойная палочка может поражать различные органы и ткани организма человека, а инфицирование легких и сердца при попадании возбудителя в кровотоки приводит к смертельному исходу в 25% случаев [4].

Ps. aeruginosa способна контаминировать разные виды растений: арабидопсис, табак и салат [6,13], что свидетельствует о ее полигостальности.

В работах Rahme L.G., Ausubel F.M. и др. [16,17] доказывается преимущество использования растительных моделей над животными. В качестве доказательств приводятся следующие факты: частые мутации штаммов изучаемых микроорганизмов в животных клетках, уникальность растительных организмов и их способность противостоять внедрению внутриклеточных паразитов с еще слабоизученными механизмами защиты, этические соображения, возможность изучать каждый фактор патогенности в отдельности и другие. В цитируемой работе [17] патогенный для человека и животных штамм PA14 синегнойной палочки вызывал мягкую гниль, хлороз листьев, а спустя 4–5 дней инкубации полную мацерацию растительных тканей.

В ряде развитых европейских стран фактором передачи *Ps. aeruginosa* оказались сырые грибы и ростки фасоли. По мнению Cigan В. и др. только используя тщательную тепловую обработку, можно снизить число потенциальных патогенов [11].

Listeria monocytogenes — грамположительные факультативно-анаэробные палочки с весьма небольшим набором факторов патогенности (7 белков), основным из которых является белок — листериолизин О, синтезирующийся благодаря гену *hly A*, который воздействует на цитоплазматическую мембрану клеток как высших, так и низших эукариот (простейших) [2].

L. monocytogenes способны вызывать листериоз – тяжелое инфекционное заболевание животных и людей, относящееся к классу сапронозов (сапрозоонозов).

Незначительный удельный вес листериоза в структуре пищевых инфекций (от нескольких десятков до 2000 случаев в год) не уменьшает значимости проблемы в связи с высокой летальностью – до 43% [8,12].

Основной путь заражения листериозом – алиментарный, среди факторов передачи преобладают мясные изделия, молочные, рыбные продукты и овощи [10]. Как и другие возбудители пищевых инфекций, листерии формируют биопленки на продуктах питания, что представляет особую опасность для человека.

Вирулентные листерии и псевдомонады характеризуются убиквитарностью: они распространены в различных почвах, водоемах, сточных водах; выделяются от домашних и диких животных, грызунов, что свидетельствует о полигостальности возбудителей. Также еще одной важной особенностью данных бактерий являются их психротрофные свойства (способность к размножению при низких положительных температурах), а также устойчивость к замораживанию, высушиванию и воздействию других абиотических факторов.

Установлено, что синегнойной инфекции и листериозу подвержены лица с ослабленным иммунитетом, онкологические больные, люди преклонного возраста, дети, беременные женщины и др. [7, 9, 11].

Материалы и методы

В экспериментах нами были использованы следующие штаммы изучаемых бактерий: *Ps. aeruginosa* B 3994, *Ps. fluorescens* 948 ATCC (ООО «Велес»), а также вирулентный штамм *L. monocytogenes* EGD, который был использован в совместных исследованиях с сотрудниками лаборатории экологии возбудителей инфекций НИЦ микробиологии и эпидемиологии имени Н.Ф. Гамалеи д.б.н. Ермолаевой С.А. и д.б.н. Пушкаревой В.И.). Псевдомонады культивировали на среде МПА, а листерии – на жидкой и плотной среде ВНИ (Difco), а при высевах из каллусов – на селективной среде Palkam (Hi-media) при температуре 30⁰С в течение 1 – 3 суток.

Каллусные культуры листового салата (*Lactuca sativa* L.) и базилика (*Ocimum basilicum*) выращивали на среде Мурасиге – Скуга в чашках Петри при влажности воздуха 70%, освещенности 5000 люкс в течение 30–45 суток [5]. Средняя масса посадочного инокулюма растительных клеток составляла 0,5 г.

Заражение каллусов для бактериологических исследований проводили с помощью шприца, вводя бактериальную суспензию в агар под каждый образец в дозе 10⁶ м.к./мл по оптическому стандарту мутности (National capacity standard). В качестве контроля оставляли каллусы, под которые вводили по 1,0 мл изотонического раствора NaCl. Посевы исследовали в динамике (через 1–3–5–7 суток после заражения) путем посева суспензии из гомогенизированных в изотоническом растворе хлористого натрия образцов (Disperser T 10 basic IKA, Germany) на среду МПА для количественного учета по КОЕ.

Идентификацию и биохимические свойства изолятов из каллусных тканей оценивали с помощью метода окраски по Граму, световой микроскопии, на тест-системах API-E (Bio – Merieux, Франция). При определении бактерий рода

Pseudomonas также использовали посевами на среду для выявления пигмента пиоцианина.

При сомнительных результатах посевов использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) (табл.1).

Молекулярно–генетические исследования изолятов псевдомонад проводили с использованием родо– (*Ps–for/Ps–rev*) и видоспецифичных (*PA–SS–F/PA–SS–R*) праймеров для выявления *Ps. aeruginosa* для детекции *toxA*–гена, кодирующего экзотоксин А., а также универсальных праймеров к 16S рРНК (*515F/1391R*).

Таблица 1

Праймеры, используемые в ПЦР–анализе для идентификации псевдомонад и листерий [4, 21]

Выявляемый вид, последовательность	Праймер	Нуклеотидная последовательность	Размер фрагмента, п.н.
<i>Pseudomonas spp.</i>	Ps–for	5'–GG TCTGAGAGGATGATCAGT	969
	Ps–rev	5'–TTAGCTCCACCTCGCGGC	
<i>Ps. aeruginosa</i>	PA–SS–F	5'–GGGGGATCTTCGGACCTCA	956
	PA–SS–R	5'–TCCTTAGAGTGCCACCCG	
16S рРНК универсальная	515F	5'–GTGCCAGCMGCCGCGGTAA	876
	1391R	5'–GACGGGCGG TGWGTRCA	
<i>Listeria spp.</i>	prs1	5'–GCATTGCGTGAAGCTGGCGCAAC	220
	prs2	5'–CAGAAGCATTTTCAT GAAC	

При идентификации листерий использовали пару праймеров *prs1 – prs2*, являющимися родоспецифическими, направляющими амплификацию фрагмента гена *prs*, кодирующего белок фосфорибозилпирофосфатсинтазу, необходимый в общем метаболизме бактериальной клетки, не связанный с патогенностью.

Отдельную колонию каждого штамма ресуспендировали в 500 мкл сверхчистой воды, инкубировали в твердотельном термостате «Термит» (Россия) в течение 10 мин при 95°С и центрифугировали 5 мин при 13 000 об/мин. Надосадочную жидкость использовали для молекулярно–генетических исследований.

Протоколы амплификации соответствовали рекомендациям авторов, предложивших используемые праймеры. Температура отжига для праймеров *Ps–for/Ps–rev*: 65°С – 60 с; для *PA–SS–F/PA–SS–R*: 58°С – 20 с; для универсальных праймеров *515F/1391R*: 56°С – 40 с. Электрофоретическое разделение продуктов реакции проводили в 1,2% агарозном геле в трис–боратном буфере при напряжении электрического поля 6 В/см.

В работе использовали по 3 каллуса для каждого варианта опыта. Статистическая обработка проводилась по программе Microsoft Office Excel 2007.

Результаты и обсуждение

Бактериологические исследования каллусов листового салата уже в первые сутки после заражения выявили проникновение всех исследуемых бактерий в растительные ткани, причем наибольшая концентрация была отмечена у синегнойной палочки – 10^7 КОЕ/г (рис.1).

Косвенным свидетельством колонизации является выделение бактерий только из гомогената тканей, тогда как смывы с поверхности образцов не содержали искомым микроорганизмов. В это время объекты заражения не изменяли цвета и по внешнему виду соответствовали контрольному варианту (неконтаминированные каллусы).

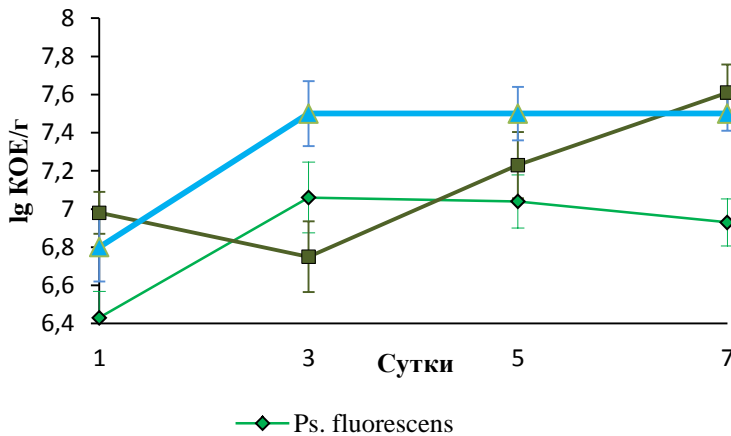


Рис.1. Динамика численности псевдомонад и листерий в ассоциации с каллусами листового салата, 25°C

Начиная с 3-их суток, каллусы, зараженные вирулентными листериями и псевдомонадами, прекращали свой рост и приобретали коричневую окраску; на поверхности агара вокруг каллусов, инфицированных *Ps.aeruginosa* можно было наблюдать характерный признак данных бактерий – выделение пиоцианина – синезеленого нефлуоресцирующего пигмента (рис.2). Численность возбудителя синегнойной инфекции несколько сократилась – до 6,8 lg KOE/г., а количество *L.monocytogenes* продолжала возрастать до 7,5 lg KOE/г.

Образцы, контаминированные непатогенными псевдомонадами, сохраняли нормальный внешний вид, однако, при посевах из гомогената отмечено увеличение численности бактерий до 10^7 КОЕ/г (рис.1,2).



Рис. 2. Морфологические изменения каллусов листового салата на 3-и сутки после заражения: А– *L.monocytogenes*, Б – *Ps.aeruginosa*, В – *Ps.fluorescens*

Через неделю каллусы, зараженные *L.monocytogenes* и *Ps.aeruginosa*, представляли собой темно окрашенные ткани с мацерированными участками из-за действия них бактериальных токсинов – листериолиза О и экзотоксина А; напротив, каллусы, инфицированные *Ps. fluorescens* в эти сроки не испытывали видимого фитопатогенного воздействия. Через 7 дней сокультивирования изучаемых бактерий и «модельных растений» сохранялась прежняя численность листерий и непатогенных псевдомонад – 10^7 КОЕ/г, а концентрация *Ps.aeruginosa* продолжала возрастать до полной гибели каллусов листового салата.

При взаимодействии изучаемых бактерий с каллусами базилика популяционная динамика имела существенные различия в зависимости от используемых для заражения микроорганизмов.

Динамика численности листерий, взаимодействующих с каллусами базилика, показала, что концентрация возбудителей листериоза в ассоциации с «модельными растениями» в течение недели сокращается и на 7-и сутки достигает 10^6 КОЕ/г. Численность *Ps.aeruginosa* в ассоциации с базиликом достигала своего максимума на 3-и сутки инфицирования, после чего также сокращалась до $6,5 \lg$ КОЕ/г (рис. 3).

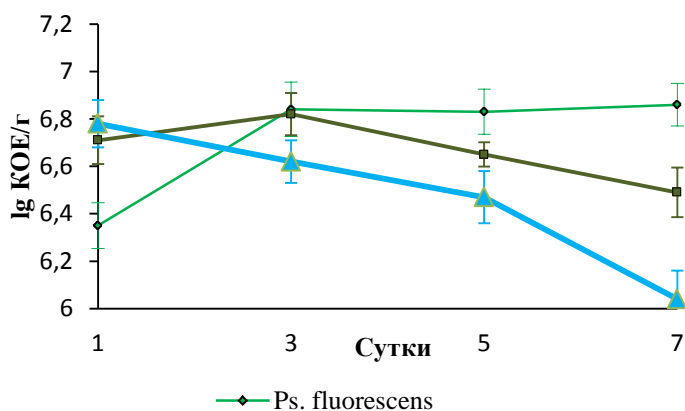


Рис. 3. Динамика численности псевдомонад и листерий в ассоциации с каллусами базилика, 25°C

Сокращение численности бактерий–возбудителей сапронозных инфекций при таком взаимодействии сопровождается изменением внешнего вида каллусов, проявляющимся в приобретении темно–коричневой окраски в связи с испытываемым стрессом (действием бактериальных токсинов: экзотоксина А у *Ps.aeruginosa* и листериолизина О у *L.monocytogenes*) (рис.4).

Снижение численности вирулентных бактерий может быть связано с проявлением фитонцидных свойств базилика, содержащего эфирные масла, обеспечивающие защитный механизм при внедрении инфекционных агентов в растительные клетки.

При взаимодействии *Ps.fluorescens* с каллусной культурой базилика численность бактерий возрастает на протяжении всего опыта. По–видимому, между флуоресцирующими сапротрофами и каллусами базилика устанавливаются положительные симбиотические отношения, при которых, бактерии не оказывают токсического воздействия на рост и морфологические особенности каллусов в течение периода наблюдений и продолжают размножаться (рис.3,4).

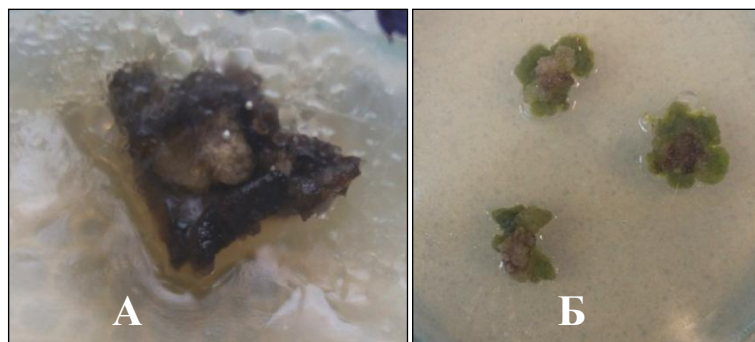


Рис. 4. Морфологические изменения каллусов листового салата на 3–и сутки после заражения: А – *Ps. aeruginosa*, Б – *Ps. fluorescens*

Культуральные, морфологические и биохимические свойства изолятов листерий и псевдомонад, полученных в ходе экспериментов, не изменялись.

На сегодняшний день значение пищевых инфекций, связанных с употреблением в пищу зеленных культур, не подвергающихся предварительной термической обработке, возрастает с увеличением внешнеэкономических торговых отношений между крупными развитыми и развивающимися государствами. Возбудители пищевых инфекций находят новые резервуары в растительных организмах, паразитируя в их клетках, становясь угрозой для здоровья и жизни людей. Решение данной проблемы требует объединенных усилий специалистов сельского хозяйства, микробиологов, биотехнологов, экологов, инфекционистов и др.

Использование в качестве моделей зеленных растений каллусных культур позволяет детально и за короткий промежуток времени исследовать фитобактериальные взаимодействия внутриклеточных паразитов, таких как, например, листерии и синегнойные палочки с растительными организмами;

изучить популяционную динамику бактерий и сравнить поведение патогенных, условно-патогенных и сапротрофных бактерий в ассоциации с макроорганизмами.

Данные эксперименты более полно раскрывают наше представление о микробно-растительных взаимодействиях, а также определяют характер и результат воздействия условно-патогенной *Ps.aeruginosa* и патогенной *L.monocytogenes* на растительные клетки.

Выводы

1. При взаимодействии с каллусами листового салата численность изучаемых штаммов бактерий на протяжении всего опыта увеличивалась. Максимум был отмечен при заражении *Ps.aeruginosa* – 7,6 lg КОЕ/г.

2. Популяционная динамика инфицированных каллусов выявила различия между штаммами вирулентных и сапротрофных бактерий в ассоциации с базиликом, фитонцидные свойства которого несколько снижают численность *Ps.aeruginosa* и *L.monocytogenes* до 6–6,5 lg КОЕ/г в конце опыта при максимуме 6,6–6,8 lg КОЕ/г (практически до исходного уровня заражения) на 3-и сутки исследований.

3. Между сапротрофными псевдомонадами и каллусами базилика в течение периода наблюдений установились положительные симбиотические отношения, при которых бактерии не оказывали токсического воздействия на рост и морфологические особенности каллусов; отмечено некоторое увеличение численности *Ps.fluorescens*.

4. Взаимодействие патогенных листерий и синегнойных палочек с каллусными культурами выявило характер взаимоотношений по типу «паразит – хозяин» с последующим некрозом и гибелью модельных растений.

Библиографический список

1. Балко А.Б., Балко О.И., Авдеева Л.В. Формирование биопленки штаммами *Pseudomonas aeruginosa* Украинской коллекции микроорганизмов // Микробиол.журн., 2013. Т. 75, N 2. С.50–56.

2. Годова Г.В., Пушкарева В.И., Калашикова Е.А., Овод А.А., Диденко Л.В., Князев А.Н., Ермолаева С.А. Формирование биопленок *Listeria monocytogenes* при взаимодействии с клетками овощных культур // Известия ТСХА N 5, 2013. С. 50–59.

3. Гордеева Т.Х., Масленникова С.Н., Гаджиева Т.П. Формирование микробно-растительных сообществ ризосферы в онтогенезе зерновых культур// Политематический сетевой электронный научный журнал КубГАУ, 2012. Вып. 81 (07). С. 611–620.

4. Кузнецова М. В., Павлова Ю. А., Карпунина Т. И., Демаков В.А. Опыт использования методов молекулярной генетики при идентификации клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa* // Клиническая лабораторная диагностика, 2013. Вып. 3. С. 34–37.

5. Лабораторный практикум по сельскохозяйственной биотехнологии / Е.А. Калашикова, М.Ю. Чередниченко, Н.П. Карсункина, М.Р. Халилуев. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2014. С. 147.

6. Маркова Ю.А., Турская А.Л. Растения как экологическая ниша патогенных для человека энтеробактерий // Кубанский политематический научный журнал, 2012. Вып. 84. С. 87–101.

7. Овод А.А., Пушкарёва В.И., Годова Г.В., Калашикова Е.А. Овощные культуры как модель для изучения полигостальности *Listeria monocytogenes* // Современные научные исследования, 2015. Вып. 3 URL: <http://e-koncept.ru/2015/85230.htm> – ISSN 2304–120X (дата обращения: 03.12.2016)

8. Пушкарёва В.И., Диденко Л.В., Годова Г.В., Овод А.А., Калашикова Е.А., Ермолаева С.А. *Listeria monocytogenes* – взаимодействие с агрокультурами и стадии формирования биопленки // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика, 2013. Вып. 1. С. 42–49.

9. Пушкарёва В.П., Литвин В.Ю., Дробященко М.Л. Эпидемиологическая опасность формирования биопленок в условиях пищевого производства // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2011. N 2. С. 17–23.

10. Пушкарёва В.И., Литвин В.Ю., Ермолаева С.А. Растения как резервуар и источник возбудителей пищевых инфекций. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2012. N 2. С.10–20.

11. Curran B. et al. Commercial mushrooms and bean sprouts are a source of *Pseudomonas aeruginosa* // J. Clin. Microbiol. 2005. Vol. 43. P. 5830

12. Dreux N.C. Fate of *Listeria spp.* on parsley leaves grown in laboratory and field cultures // J. Appl. Microbiol. 2007. Vol. 103. P. 1821–1827.

13. Elrod R.P, Braun A.C. *Pseudomonas aeruginosa* its role as a plant pathogen // J. Bacteriol. 1942. V. 44. P. 633–645.

14. Hoiby N., Bjarnsholt T., Givskov M., Molin S., Ciofu O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms // Int. J. Antimicrob. Agents. 2010. Vol 35 (4). P. 322–332.

15. Lyczak J.B., Cannon C., Pier G.B. Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist // Microb. Infect. 2000. Vol 2 (9). P. 1051–1060.

16. Rahme L.G., Ausubel F.M., Cao H., Drenkard E., Goumnerov B.C., Lau G.W., Mahajan–Miklos S., Plotnikova J., Tan M.W., Tsongalis J., Walendziewicz C.L., Tompkins R.G. Plants and animals share functionally common bacterial virulence factors // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. V. 97 (16). P.8815–8821.

17. Rahme L.G., Tan M.W., Le L., Wong S.M., Tompkins R.G., Calderwood S.B., Ausubel F.M. Use of model plant hosts to identify *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94 (24). P. 13245–13250.

18. Rossolini G.M., Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* // Clin. Microbiol. Infect. 2005. Vol 11(4). P. 17–31.

19. Stoodley P., Sauer K., Davies D.G., Costerton J.W. Biofilms as complex differentiated communities // Annu. Rev. Microbiol. 2002. N 56. P. 187–209.

20. Tyler H.L., Triplett E.W. Plants as a Habitat for Beneficial and/or Human Pathogenic Bacteria // Annu. Rev. Phytopathol. 2008. V. 46. P. 53–73.

21. Vazquez–Boland J.A., Kuhn M., Berche P. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants // Clin. Microbiol., 2001. N 14. P. 584–640.

PECULIARITIES OF THE POPULATION DYNAMICS OF *PSEUDOMONAS* AND *LISTERIA* IN ASSOCIATION WITH LEAF PLANT CALLUSES

A.A. OVOD, G.V. GODOVA, YE.A. KALASHNIKOVA

(Russian Timiryazev State Agrarian University)

The authors have studied *in vitro* the population dynamics of the bacteria of the *Pseudomonas* (*Ps.aeruginosa* and *Ps.fluorescens*) and *Listeria monocytogenes* genuses when interacting with the calluses of lettuce and basil. As a result of the experiments, they have determined the distinctive features of the bacteria behavior in association with various green crops. When interacting with calli of lettuce, the number of the studied bacteria strains have been increasing throughout the experience. The maximum of 7.6 lg CFU/g was observed when infected by the *Ps.aeruginosa*. The population dynamics of infected calluses has revealed differences between strains of virulent and saprotrophic bacteria in association with anti-bacterial properties of basil which have reduced the number of *Ps.aeruginosa* and *L. monocytogenes* to 6–6.5 lg CFU/g at the end of the experiment at a maximum of 6.6 to 6.8 lg CFU/g on the third day of the experiment. The authors have also stated a positive symbiotic relationship between saprotrophic *Pseudomonas* and basil calluses during the observation period, in which the bacteria did not exert toxic effects on the growth and morphological features of calluses; there was a slight increase in the number of *Ps.fluorescens*.

The isolates have been identified from model plants with Gram staining, biochemical tests and PCR. When identifying bacteria of the *Pseudomonas* genus, use was made of the inoculation of medium for the identification of a pyocyanin pigment. The interaction of pathogenic *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas aeruginosa* from callus cultures has revealed the nature of the relationship of a "parasite – host" type followed by the necrosis and death of model plants. The contamination of green crops by virulent *L. monocytogenes* and *Ps.aeruginosa* is a potential epidemiological danger.

Key words: bacteria population dynamics, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Listeria monocytogenes*, foodborne infection, calluses of leaf plants.

References

1. Balko A.B., Balko O.I., Avdeyeva L.V. Formirovaniye bioplenki shtammami *Pseudomonas aeruginosa* Ukrainskoy kollektzii mikroorganizmov [Formation of biofilms with *Pseudomonas aeruginosa* strains of the Ukrainian collection of microorganisms] // Mikrobiol.zhurn., 2013. Vol. 75, No. 2. P. 50–56.
2. Godova G.V., Pushkareva V.I., Kalashnikova Ye.A., Ovod A.A., Didenko L.V., Knyazev A.N., Yermolayeva S.A. Formirovaniye bioplenok *Listeria monocytogenes* pri vzaimodeystvii s kletkami ovoshchnykh kul'tur [Formation of *Listeria monocytogenes* biofilms at interaction with cells of vegetable crops] // Izvestiya TSKhA No. 5, 2013. P. 50–59.
3. Gordeyeva T.Kh., Maslennikova S.N., Gadzheyeva T.P. Formirovaniye mikrobnorastitel'nykh soobshchestv rizosfery v ontogeneze zemovykh kul'tur [Formation of microbial-plant communities of rhizosphere in the ontogenesis of cereal crops] // Politematicheskiy setevoy elektronnyy nauchnyy zhurnal KubGAU, 2012. Issue 81 (07). P. 611–620.

4. *Kuznetsova M.B., Pavlova Yu.A., Karpunina T.I., Demakov V.A.* Opyt ispol'zovaniya metodov molekulyarnoy genetiki pri identifikatsii klinicheskikh shtammov *Pseudomonas aeruginosa* [Experience of using molecular genetics methods in identifying clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*] // *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 2013. Issue 3. P. 34–37.
5. *Laboratorynyy praktikum po sel'skokhozyaystvennoy biotekhnologii* [Laboratory workshop on agricultural biotechnology] / *Ye.A. Kalashnikova, M.YU. Cherednichenko, N.P. Karsunkina, M.R. Khaliluyev*. M.: Izd-vo RGAU–MSKhA, 2014. P. 147.
6. *Markova Yu.A., Turskaya A.L.* Rasteniya kak ekologicheskaya nisha patogennykh dlya cheloveka enterobakteriy [Plants as an ecological niche of enterobacteria that are pathogenic for human] // *Kubanskiy politematicheskiy nauchnyy zhurnal*, 2012. Issue 84. P. 87–101.
7. *Ovod A.A., Pushkareva V.I., Godova G.V., Kalashnikova Ye.A.* Ovoshchnyye kul'tury kak model' dlya izucheniya poligostal'nosti *Listeria monocytogenes* [Vegetable crops as a model for the study of polygastality of *Listeria monocytogenes*] // *Sovremennyye nauchnyye issledovaniya*, 2015. Issue 3. URL: <http://e-koncept.ru/2015/85230.htm> – ISSN 2304–120X (Date of access: 03.12.2016)
8. *Pushkareva V.I., Didenko L.V., Godova G.V., Ovod A.A., Kalashnikova Ye.A., Yermolayeva S.A.* *Listeria monocytogenes* – vzaimodeystviye s agrokul'turami i stadii formirovaniya bioplenki [Listeria monocytogenes – its interaction with agricultural crops and biofilm formation stages] // *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika*, 2013. Issue 1. P. 42–49.
9. *Pushkareva V.P., Litvin V.Yu., Drobyashchenko M.L.* Epidemiologicheskaya opasnost' formirovaniya bioplenok v usloviyakh pishchevogo proizvodstva [Epidemiological risk of biofilm formation in food production conditions] // *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*, 2011. No. 2. P. 17–23.
10. *Pushkareva V.I., Litvin V.Yu., Yermolayeva S.A.* Rasteniya kak rezervuar i istochnik vzbuditeley pishchevykh infektsiy [Plants as a reservoir and source of pathogens of foodborne infections]. // *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*, 2012. No. 2. P.10–20.
11. *Curran B. et al.* Commercial mushrooms and bean sprouts are a source of *Pseudomonas aeruginosa* // *J. Clin. Microbiol.* 2005. Vol. 43. P. 5830
12. *Dreux N.C.* Fate of *Listeria spp.* on parsley leaves grown in laboratory and field cultures // *J. Appl. Microbiol.* 2007. Vol. 103. P. 1821–1827.
13. *Elrod R.P., Braun A.C.* *Pseudomonas aeruginosa* its role as a plant pathogen // *J. Bacteriol.* 1942. Vol. 44. P. 633–645.
14. *Hoiby N., Bjarnsholt T., Givskov M., Molin S., Ciofu O.* Antibiotic resistance of bacterial biofilms // *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2010. Vol 35 (4). P. 322–332.
15. *Lyczak J.B., Cannon C., Pier G.B.* Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist // *Microb. Infect.* 2000. Vol 2 (9). P. 1051–1060.
16. *Rahme L.G., Ausubel F.M., Cao H., Drenkard E., Goumnerov B.C., Lau G.W., Mahajan–Miklos S., Plotnikova J., Tan M.W., Tsongalis J., Walendziewicz C.L., Tompkins R.G.* Plants and animals share functionally common bacterial virulence factors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. Vol. 97 (16). P. 8815–8821.
17. *Rahme L.G., Tan M.W., Le L., Wong S.M., Tompkins R.G., Calderwood S.B., Ausubel F.M.* Use of model plant hosts to identify *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. Vol. 94 (24). P. 13245–13250.

18. *Rossolini G.M., Mantengoli E.* Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* // Clin. Microbiol. Infect. 2005. Vol 11(4). P. 17–31.

19. *Stoodley P., Sauer K., Davies D.G., Costerton J.W.* Biofilms as complex differentiated communities // Annu. Rev. Microbiol. 2002. No. 56. P. 187–209.

20. *Tyler H. L., Triplett E.W.* Plants as a Habitat for Beneficial and/or Human Pathogenic Bacteria // Annu. Rev. Phytopathol. 2008. Vol. 46. P. 53–73.

21. *Vazquez-Boland J.A., Kuhn M., Berche P.* *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants // Clin. Microbiol., 2001. No. 14. P. 584–640.

Овод Артем Артурович – асп. кафедры микробиологии и иммунологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (125550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (967) 050–48–73; e-mail: belosom@rambler.ru).

Годова Галина Владимировна – к. б. н., доц. кафедры микробиологии и иммунологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (125550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976–09–66); e-mail: godova@list.ru).

Калашникова Елена Анатольевна – д. б. н., проф. кафедры генетики, биотехнологии, селекции и семеноводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (125550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976–40–72; e-mail: kalash0407@mail.ru).

Artem A. Ovod – postgraduate student, the Department of Microbiology and Immunology, Russian Timiryazev State Agrarian University (125550, Moscow, Timiryazevskaya Str., 49; phone: (967) 050–48–73; e-mail: belosom@rambler.ru).

Galina V. Godova – PhD (Bio), Associate Professor, the Department of Microbiology and Immunology, Russian Timiryazev State Agrarian University (125550, Moscow, Timiryazevskaya Str., 49, phone: (499) 976–09–66); e-mail: godova@list.ru).

Yelena A. Kalashnikova – DSc (Bio), Professor, the Department of Genetics, Biotechnology, Selection and Seed Growing, Russian Timiryazev State Agrarian University (125550, Moscow, Timiryazevskaya Str., 49; phone: (499) 976–40–72); e-mail: kalash0407@mail.ru).