

16. Rotsch, C. Dimensional and mechanical dynamics of active and stable edges in motile fibroblasts investigated by using atomic force microscopy [Text] / C. Rotsch, K. Jacobson, M. Radmacher // Proc.Natl.Acad.Sci.USA, Cell Biology. – 1999. – V.96. – P. 921–926.
17. Sneddon, I.N. The relation between load and penetration in the axisymmetric Boussinesq problem for a punch of arbitrary profile [Text] I.N. Sneddon // Int. J. Eng. Sci.– 1965. – V. 3. – P. 47–57.
18. Wilson, M.R. Interaction between ultrafine particles and transition metals in vivo and in vitro [Text] / M.R. Wilson, J.H. Lightbody, K. Donaldson, J. Sales, V. Stone // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2002. – V. 184. – P. 172-179.
19. Wojcikiewicz, E. Force and Compliance Measurements on Living Cells Using Atomic Force Microscopy [Text] / E. Wojcikiewicz, X. Zhang, V. Moy // Biol. Proced. Online. – 2004. – V. 6(1). – P. 1–9.

© Скоркина М.Ю., Федорова М.З., Сладкова Е.А., Деркачев Р.В., Забияков Н.А., 2010

УДК 612.1

**Т.Ф. Черняковская**

### **МОДЕЛЬНАЯ ДЕСТРУКЦИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И ТКАНЕЙ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ГИДРОЛИТИЧЕСКИМ КОМПЛЕКСОМ МИКРООРГАНИЗМОВ**

Исследована сукцессия аэробных и факультативно анаэробных сапротрофных прокариот в условиях повышенного увлажнения на специально разработанной установке. Деструкцию *Anabena* и *Phragmites australis* осуществляет однотипное «бактериальное ядро». Комплекс микроорганизмов на тростнике включает также актиномицеты, дрожжи и мицелиальные микромицеты.

*Ключевые слова:* *Anabena*, *Phragmites australis*, дрожжи, гидролитический комплекс прокариот, мортмасса, моделирование процесса деструкции.

**T.F. Tshernyakovskaya**

### **MODEL DESTRUCTION OF CYANOBACTERIUMS AND HIGH PLANTS TISSUES BY HYDROLYTIC COMPLEX OF MICROORGANISMS**

Succession of aerobic and elective-anaerobic saprotroph procaryots was researched in increased moist condition by using special installation. Destruction of *Anabena* and *Phragmites australis* are carried out by equal «bacterial substance». Actinomycetes, yeasts and mycelial micromycetes are included in complex of microorganisms on *Ph. australis* too.

*Key words:* *Anabena*, *Phragmites australis*, yeasts, hydrolytic complex of procaryots, model destruction.

Микробиологическая деградация растительной мортмассы – глобальный биогеохимический процесс, определяющий в конечном итоге состояние наземного покрова и атмосферы Земли. Главный маршрут деградации растительного покрова – разложение скелетного материала наземных растений, представленного лигноцеллюлозой [6,8]. В наземных экосистемах этот процесс активно изучается [2,6,8]. Данные о микробиологической деструкции растительной мортмассы в водных экосистемах до сих пор остаются малоизученными. В этой связи особый интерес представляет деградация прокариотных фотосинтезирующих организмов – цианобактерий, широко распространенных в водных экосистемах и почвах.

Химический состав растений включает 2-15% белка и 10% растворимых соединений, 10-60% целлюлозы, 10-30% гемицеллюлозы, 5-30% лигнина. Таким образом, в растительной мортмассе среди углеродсодержащих соединений преобладает лигноцеллюлоза. Она составляет около 1/2 всего углерода, ассимилированного растениями [6,7]. Клеточная стенка цианобактерий включает аминокислоты, жирные кислоты, липосахариды и др. Однако основным ее компонентом является муреин (вещество из группы пептидогликанов). Поверх оболочки клетки могут быть покрыты слизью, состоящей из набухающих в воде полисахаридов [4,9].

Целью настоящей работы является изучение сукцессии аэробных и факультативно анаэробных сапротрофных прокариот, а также дрожжей при разложении мортмассы прибрежно-водного

растения *Phragmites australis* (тростника обыкновенного) и цианобактерий р. *Anabaena* в модельном эксперименте в условиях повышенного увлажнения.

Для моделирования условий разложения растительного материала в водоеме на твердом грунте применяли установку: пластиковый цилиндр из химически инертного материала высотой 10-15 см, на нижний конец которого надета сетка, наполовину заполняли кварцевым песком (промытым и простерилизованным в сушильном шкафу при температуре 105°C в течение 8 часов). Листья тростника и биомассу цианобактерий распределяли по поверхности песка. Цилиндр помещали в кристаллизатор со стерильной водопроводной водой, налитой на несколько миллиметров ниже уровня поверхности песка. Сверху вся установка была закрыта стеклянным колпаком. Эксперимент выполнялся при температуре 20°C в течение 14 суток.

Для изучения состава микробных сообществ проводились исследования общей численности и состава микроорганизмов на листьях Тростника обыкновенного и биомассе цианобактерий в начале эксперимента и через 14 суток, классическим чашечным методом из серийных разведений на широкий спектр сред с полимерами (среда Гаузе 1, среда Гетчинсона с КМЦ, среда с яичным желтком). Определяли общую численность выделенных бактерий и их амилолитическую, лецитиназную, липазную, протеазную активность [1]. Отдельно проводили учет грамотрицательных бактерий, грамположительных спорообразующих и коринеподобных бактерий на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде, а также учет дрожжевых организмов на сусло-агаре.

Для проведения идентификации бактерии и дрожжи выделяли в чистую культуру, микроскопировали и проводили физиолого-биохимические тесты [3,9].

Общая численность бактерий на живых цианобактериях и на листьях тростника составляла величины одного порядка. Таксономическая структура бактериальных сообществ исследуемого комплекса на этих субстратах различается незначительно. В обоих вариантах присутствуют эпифитные коринеподобные бактерии р.р. *Micrococcus* и *Curtobacterium*, а также эврибионты р. *Rhodococcus*. На тростнике обнаружены протеобактерии р. р. *Methylobacterium* и *Azospirillum*, на цианобактериях – р. *Flavobacterium*. Кроме того, на цианобактериях обнаружены единичные представители прокариот гидролитического комплекса – р. р. *Cytophaga*, *Muxobacterium*, *Bacillus* (табл. 1). С воздушно-сухими листьями тростника ассоциированы также дрожжи р. р. *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*.

Таблица 1

Численность и таксономический состав сообщества прокариот, ассоциированных с цианобактериями р. *Anabena* и *Phragmites australis* (живой материал)

Объект исследования	Численность КОЕ/г	Таксономический состав сообщества
Цианобактерии р. <i>Anabena</i>	4,81·10 <sup>6</sup>	Бактерии: <i>Rhodococcus</i> <i>Curtobacterium</i> <i>Micrococcus</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Cytophaga</i> <i>Muxobacterium</i> <i>Bacillus</i>
<i>Phragmites australis</i>	3,0·10 <sup>6</sup>	Бактерии: <i>Rhodococcus</i> <i>Curtobacterium</i> <i>Micrococcus</i> <i>Methylobacterium</i> <i>Azospirillum</i>
	4,0·10 <sup>4</sup>	Дрожжи: <i>Rhodotorula</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Trichosporon</i>

Примечание: общая численность бактерий определялась на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде; КОЕ/г – колонии, образующие единицы на 1 г исследуемого материала.

Через 14 суток после начала эксперимента установлено снижение общей численности микроорганизмов на цианобактериях на один порядок и увеличение их численности на один порядок на тростнике (табл. 2). Анализ таксономического состава сообществ прокариот позволил выявить на тростнике большее таксономическое разнообразие бактерий (12 таксонов в ранге рода), чем на цианобактериях (6 таксонов). На обоих субстратах обнаружены представители гидролитического

комплекса: протеобактерии р.р. Cytophaga, Muxobacterium и грамположительные спорообразующие бактерии р. Bacillus. На тростнике обнаружены также актиномицеты р. Streptomyces, которые всегда принимают активное участие в разложении фитомассы на поздних этапах сукцессии, так как осуществляют деструкцию сложных полимерных соединений, и бактерии-копиотрофы, ассоциированные с гидролитами и утилизирующие простые органические соединения (р. Aquaspirillum, Pseudomonas, Flavobacterium). Кроме того, на тростнике выявлены бактерии р. Azotobacter – типичные спутники гидролитиков, дрожжи р.р. Cryptococcus, Trichosporon и многочисленные представители микромицетов, которых мы не идентифицировали.

Таблица 2

Таксономический состав сообществ прокариот на мортмассе цианобактерий р. Anabena и Phragmites australis

Объект исследования	Численность КОЕ/г	Таксономический состав сообщества
Цианобактерии р. Anabena	1,15·10 <sup>5</sup>	Бактерии: Aquaspirillum Pseudomonas Curtobacterium Cytophaga Muxobacterium Bacillus
Phragmites australis	1,2·10 <sup>7</sup>	Бактерии: Aquaspirillum Pseudomonas Flavobacterium Curtobacterium Azotobacter Cytophaga Muxobacterium Bacillus Streptomyces
	1,15·10 <sup>5</sup>	Дрожжи: Cryptococcus, Trichosporon

Определяли способность микроорганизмов, ассоциированных с мортмассой тростника и цианобактерий, утилизировать полимеры. Установлено, что бактерии, осуществляющие деструкцию цианобактерий, обладают выраженной амилолитической и целлюлазной активностью. У микроорганизмов, развивающихся на мортмассе тростника, выявлена амилолитическая, целлюлазная и липазная активности.

Таким образом, в ходе проведенного исследования нами апробирована методика постановки модельного эксперимента по разложению растительного материала в условиях повышенного увлажнения, проанализирован таксономический состав сообществ бактерий гидролитического комплекса на мортмассе Тростника обыкновенного и цианобактерий р. Anabena.

Установлено, что деструкцию цианобактерий осуществляет то же «бактериальное ядро», которое составляет основу микробного сообщества при деструкции высших растений. Это протеобактерии р.р. Muxobacterium и Cytophaga, осуществляющие гидролиз полимеров, а также ассоциированные с ними копиотрофы р.р. Aquaspirillum и Pseudomonas. Наши данные коррелируют с результатами анализа списков бактерий, характерных для воды, водорослей, водных сосудистых растений и наземных растений, исходя из которого становится ясно, что большинство видов протеобактерий перешло вместе с растениями из водных в наземные экосистемы [2,7]. Самые древние прокариотные сообщества – цианобактериальные – относятся к докембрийскому периоду. Предполагается, что все бактерии, представляющие собой окружение центрального ядра, состоящего из фототрофных цианобактерий – первых продуцентов органического вещества – появились одновременно с цианобактериями [5]. Вероятно, прокариотный блок, ответственный за деструкцию полимерных соединений отмирающей фитомассы, начал формироваться уже в это время. В период господства цианобактерий целлюлозолитические организмы имели ограниченный источник субстрата. Вся обширная группировка наземных целлюлозолитических микроорганизмов и их сателлитов сформировалась после развития на Земле растительного покрова [6].

Выявленные нами различия в структуре исследуемых бактериальных комплексов проявляются на уровне крупных таксономических групп. Отмечено полное отсутствие в составе бакте-

риального сообщества на цианобактериях актиномицетов, дрожжей и грибов. По-видимому, это связано с различиями биохимического состава клеточной стенки цианобактерий и высших растений. Мицелиальные организмы – грибы, ответственные за разложение растительной мортмассы в биосфере, в палеонтологической летописи появляются одновременно с растениями или несколько раньше [5]. Среди прокариот мицелиальные организмы, характеризующиеся функциональным сходством с грибами, представлены актиномицетами. Их природное местообитание – почва, а основная экологическая роль – разложение органического вещества [8].

Проведенное исследование свидетельствует об отсутствии принципиальных отличий в структуре бактериальных комплексов, складывающихся в ходе деструкции наземных и разлагающихся в водоеме на твердом грунте прибрежно-водных растений. Вероятно, в ходе эволюции сложились достаточно стабильные сообщества прокариот, осуществляющих деструкцию биомассы растений. Мы предполагаем, что ожидать выявления каких-либо фундаментальных отличий в структуре сообщества прокариот при разложении растительного материала в водоемах и в наземных условиях на уровне зубактерий не следует.

### Библиографический список

1. Головченко, А.В. Структура бактериальных комплексов пойменных ландшафтов реки Протвы [Текст] / А.В. Головченко, Т.Г. Добровольская, М.С. Федоритенко, Н.В. Добровольская, Д.Г. Звягинцев // Микробиология. – Т. 70, Вып. 5. – 2001.
2. Добровольская, Т.Г. Структура бактериальных сообществ [Текст] / Т.Г. Добровольская. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2002. – 283 с.
3. Добровольская, Т.Г. Методы выделения и идентификации почвенных бактерий [Текст] / Т.Г. Добровольская, И.Н. Скворцова, Л.В. Лысак. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 70 с.
4. Дьяков, Ю.Т. Введение в альгологию и микологию [Текст] / Ю.Т. Дьяков. – М.: Изд-во Изд-во Московского университета, 2000. – 120 с.
5. Заварзин, Г.А. Протеобактерии: Экологический принцип в систематике прокариот [Текст] / Г.А. Заварзин // Природа. – №5. – 1990. – С. 8-17.
6. Заварзин, Г.А. Лекции по природоведческой микробиологии [Текст] / Г.А. Заварзин. – М.: Наука, 2004. – 348 с.
7. Звягинцев, Д.Г. Вертикальный континуум бактериальных сообществ в наземных биогеоценозах [Текст] / Д.Г. Звягинцев, Т.Г. Добровольская, Л.В. Лысак // Журн. общ. биологии. – 1991. – Т. 52. – № 2. – С. 162-171.
8. Звягинцев, Д.Г. Биология почв [Текст] / Д.Г. Звягинцев, И.П. Бабьева, Г.М. Зенова. – М.: Изд-во Московского университета, 2002. – 445 с.
9. Определитель бактерий Берджи [Текст] / под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. – М.: Мир, 1997 – Т. 1. – 436 с. – Т. 2. – 362 с.

© Черняковская Т.Ф., 2010