

Т.Ф.Черняковская, Т.Г.Добровольская

## ЛИТИЧЕСКИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ САПРОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ И ДРОЖЖЕЙ В ЕСТЕСТВЕННЫХ ЭКОСИСТЕМАХ

Одним из основных факторов, регулирующих состав и стабильность микробных сообществ в природных экосистемах, является взаимодействие между составляющими их популяциями микроорганизмов. Взаимодействия могут быть как положительными, так и негативными. Вариантом проявления антагонистических взаимоотношений является выделение литических ферментов микроорганизмами одной группы, воздействующих на клетки микроорганизмов другой группы. Известно, что некоторые бактерии и актиномицеты способны лизировать клетки бактерий, дрожжей и грибной мицелий, так как обладают соответствующим набором ферментов, в том числе глюкозидазами, хитиназами, липазами (Webley, Jones, 1971, Prokaryotes, 1981; Кулаев, 1997). Различают эндогенные (внутриклеточные) литические ферменты, которые находятся в клетках продуцентов в непосредственной близости от объектов своего действия, и экзогенные, то есть секретируемые в среду обитания образующих их организмов (Кулаев, 1997).

Логично предположить, что литическая активность в наибольшей степени может проявляться в тех природных местообитаниях, где разные группы микроорганизмов взаимодействуют в условиях постоянного поступления растительного материала и на разных стадиях его переработки в общем круговороте веществ. К таким местообитаниям относятся лесные и степные подстилки, гумусовые горизонты почв, торфяники, зоомикробные комплексы. Однако имеются лишь единичные исследования, в которых целенаправленно изучались бы в одних и тех же природных биотопах те группы микроорганизмов, между которыми складываются антагонистические взаимоотношения. Так, было показано (Сорокин, Бабьева, 1982), что некоторые виды бацилл и

стрептомицетов лизировали клеточные стенки дрожжей, попадающих в почву из подстилок.

Для изучения взаимодействий бактерий и дрожжей нами выбраны в качестве объектов исследования типичные и луговые степи Русской равнины, а также зоомикробные комплексы диплопод, питающихся растительным опадом. Были изучены численность и таксономическая структура блока сапротрофных бактерий и дрожжей в разных ярусах степных биогеоценозов (БГЦ) и в пищевых цепях диплопод (Черняковская и др., 1990; Виноварова, 1989; Vyzov, et al., 1996). Было установлено, что максимальное количество и таксономическое разнообразие бактерий гидролитического комплекса, приуроченных к деструкции растительных остатков, сосредоточено в степном войлоке (ветоши и подстилке), в то время как дрожжи ассоциированы с живыми и отмирающими растениями, в подстилках их количество резко снижается. В зоомикробных комплексах диплопод как бактерии, так и дрожжи сосредоточены в содержимом заднего отдела кишечника и экскрементах.

В ходе исследования была составлена коллекция бактерий (насчитывающая более 600 штаммов, относящихся к 19 родовым таксонам) по принципу отбора доминирующих групп из каждого компонента биогеоценоза или зоомикробного комплекса. Для проверки литических свойств бактерий были отобраны также штаммы дрожжей разных филогенетических линий из коллекции кафедры биологии почв МГУ и культуры дрожжей, применяемые в промышленности, — *Candida maltosa* и *Saccharomyces cerevisiae*.

Методы исследования

Дрожжелитическую активность бактерий определяли на твердой агаризованной среде с дрожжевыми клетками в качестве единственного источника угле-

рода. Культуры дрожжей выращивали на среде следующего состава (%): глюкоза – 3; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0, 085; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,015; Mg 2SO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,05; NaCl – 0,01; CaCl<sub>2</sub> – 0,01; дрожжевой автолизат – 0,5. Инокулят дрожжей вносили в 200 мл среды, разлитой по колбам, и помещали на качалку. Температура инкубации для различных представителей мезофилов составляла 26–28°, для психрофилов – 10°C. Сроки инкубации 2–3 суток или 10–14 суток соответственно. К этому времени культуры дрожжей достигали стационарной фазы. Полученную жидкую культуру дрожжей центрифугировали, промывали дистиллированной водой 2 раза (для удаления внеклеточных полисахаридов) в стерильных условиях. Промытую биомассу смешивали с расплавленным и остуженным до 40–60°C соевым агаром. Состав солевой основы (%): (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 0,1; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,1; Mg 2SO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,05; агар – 2, рН 7,0. На 500 мл среды брали суспензию клеток из 12 колб, что составляло примерно 0,7 – 1 %-ную концентрацию биомассы дрожжей в среде. Среду с убитыми клетками дрожжей готовили аналогично, но промытую суспензию клеток предварительно нагревали на водяной бане 10 мин при 80°C. 3-х суточные культуры бактерий в виде

суспензии наносили на поверхность среды множественным репликатором. Чашки с посевом инкубировали при 24°C 14 суток. Регистрировали зоны просветления, т.е. лизиса суспендированных в толще агара дрожжевых клеток. О степени активности культур судили по размерам зон лизиса вокруг колоний-продуцентов литических ферментов.

**Результаты исследований**

Способность лизировать клеточные стенки дрожжей была проверена у 628 штаммов бактерий, изолированных из разных субстратов. Среди бактерий, выделенных с зеленых частей растений, а также со стенок пищеварительного тракта диплопод (пристеночное сообщество), доля активных дрожжелитических штаммов незначительна – 5%. Несколько выше их содержание в почве – 18%. Активные штаммы были выделены в основном из подстилок и зоогенных субстратов (содержимого кишечника и экскрементов диплопод). Половина всех выявленных в этих биотопах бактерий проявила дрожжелитическую активность (табл. 1).

Таксономический состав штаммов, составляющих коллекцию и количество активных среди них, представлены в (табл. 2).

Таблица 1

**Дрожжелитическая активность бактерий, выделенных из разных субстратов исследуемых биогеоценозов и зоомикробных комплексов**

Субстрат	Выделено и проверено на активность	Из них активны	
		число	%
Филлоплана, пристеночное сообщество диплопод	152	8	5
Растительные остатки подстилка	233	119	51
Содержимое кишечника и экскременты диплопод	201	111	55
Почва	50	9	18

Таблица 2

**Дрожжелитическая активность бактерий разных родовых таксонов**

Родовые таксоны бактерий	Количество штаммов	% активных штаммов
--------------------------	--------------------	--------------------

Streptomyces	40	85
Promicromonospora	64	81
Agromyces	12	75
Oerskovia	111	68
Bacillus	56	54
Mycobacterium	83	42
Micrococcus	30	27
Cytophaga	20	25
Мухосoccus	30	17
Cellulomonas	30	0
Arthrobacter	30	0
Rhodococcus	36	0
Curtobacterium	4	0
Brevibacterium	2	0
Pseudomonas	20	0
Erwinia	15	0
Serratia	5	0
Plesiomonas	20	0
Vibrio	20	0

Условные обозначения: 0 – литическая активность не выявлена у всех штаммов бактерий

Максимальное количество штаммов, обладающих дрожжелитическими свойствами, было обнаружено среди бактерий родов *Streptomyces*, *Promicromonospora*, *Oerskovia*, *Agromyces*. Впервые дрожжелитическая активность выявлена у актинобактерий родов *Mycobacterium* и *Micrococcus*.

Таким образом, способность лизировать клетки дрожжей характерна для бактерий гидролитического комплекса, принимающих активное участие в деструкции растительного опада – *Streptomyces*, *Promicromonospora*-*Oerskovia*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Cytophaga*, *Мухосoccus*. Среди обладающих дрожжелитической активностью бактерий больше представителей с грамположительным типом строения клеточной стенки, чем с грамотрицательным.

Чувствительность дрожжей к литическому действию бактерий проявилась

как на уровне классов, так и родов. Бактерии лизировали 37% дрожжевых культур, относящихся к базидиомицетам, и 28% штаммов дрожжей – аскомицетов.

Литическое действие бактерий р. *Promicromonospora* особенно сильно проявлялось в отношении *Ph. rhodozyma* (типичное местообитание – сокотечения деревьев) – 100% взаимодействий от теоретически возможных; *Sr.albidus* и *Rh. glutinis* (типичное местообитание – филлофера растений и подстилки) – 90 и 69% соответственно. Бактерии р. *Oerskovia* были наиболее активны по отношению к клеткам *Rh. glutinis* – 65%. Представители р.р. *Promicromonospora* – *Oerskovia* проявляли высокую дрожжелитическую активность и по отношению к почвенным дрожжам *L. kononenkoae* – 58 и 61% (табл. 3).

Таблица 3

**Чувствительность дрожжей разных видов к литическим ферментам бактерий**

	Oerskovia	Promicro- monospora	Agromyces	Bacillus
<i>Debaryomyces vanriji</i>				
<i>Lipomyces kononenkoae</i>				
<i>Lipomyces tetrasporus</i>				
<i>Phaffia rhodozyma</i>				

Cryptococcus albidus				
Rhodotorula glutinis				
Sporobolomyces roseus				
Candida maltosa				
Saccharomyces cerevisiae				

Примечание: Процент штаммов дрожжей, чувствительных к литическому воздействию бактерий.



Таким образом, в результате проверки коллекции бактерий (более 600 штаммов, представленных 19 родами), выделенных из различных природных биотопов, было установлено, что способность к лизису дрожжей широко распространена среди разных таксономических групп бактерий.

Численность и таксономическое разнообразие дрожжелитических бактерий, среди которых доминировали грамположительные формы, были максимальны в подстилках и дерновом горизонте почв исследованных биогеоценозов.

Впервые была выявлена способность к лизису дрожжей у представителей родов *Micrococcus* и *Mycobacterium*, сосредоточенных на зеленых и отмирающих частях растений.

В зоомикробных комплексах диплопод (содержимое кишечника и экскременты), питающихся растительным опа-

дом, обнаружены дрожжелитические бактерии родов *Promicromonospora*, *Oerscovia*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Mucococcus*. По-видимому, эпифитные дрожжи, поступающие вместе с растительными остатками в пищеварительный тракт диплопод, подвергаются там утилизации бактериями, имеющими литические ферменты.

Дрожжелитическая активность бактерий-гидролитиков сапротрофного комплекса подстилок и почв – один из возможных факторов, регулирующих в природных экосистемах состав, численность и соотношение популяций в сукцессионных процессах разложения растительных остатков. Этот фактор проявляется как при непосредственных взаимодействиях бактериальных и дрожжевых популяций, так и при прохождении растительного материала через пищеварительный тракт беспозвоночных животных, населяющих подстилку и почву.

#### Библиографический список

1. Бабьева И.П. Дрожжи в биогеоценозах разных природных зон // Почвенные организмы как компоненты биогеоценоза. М.: Наука. 1984. С.131-141.
2. Виноварова М. Е. Дрожжевые грибы в структуре степных сообществ (заповедные степи Русской равнины): Автореф... дисс. канд. биол. наук. М., 1989. 22 с.
3. Сорокин Д.Ю., Бабьева И.П. Лизис природных популяций дрожжей почвенными микроорганизмами // Микробиология. 1982. Т.51. Вып.2. С. 328-331.
4. Черняковская Т.Ф., Добровольская Т.Г., Лысак Л.В., Ванина С.А. Закономерности распределения эпифитных и сапротрофных бактерий по компонентам вертикальной структуры степных биогеоценозов // Почвоведение. 1990. №6. С.68-77.
5. Bysov V.A., Dobrovolskaja T.G., Chernjakovskaja T.F., Zenova G.M. Bacterial communities associated with soil diplopods // Pedobiologia. 40. 1996. I
6. The Prokaryotes. A Handbook on Habitats, Isolation and Identification of bacteria: In 2V/Ed. by Starr M.P., Stolp H., Truper H.G., Balows A., Schlegel H.G. - Springer- Verlag etc., 1981. P. 2284.
7. Кулаев И. С. Бактериолитические ферменты микробного происхождения в биологии и медицине // Соросовский образовательный журнал. 1997. № 3. С. 23 – 28.