

# БУЛЕТИНУЛ

АКАДЕМИЕЙ ДЕ ШТИИНЦЕ А РСС МОЛДОВЕНЕШТЬ

СЕРИЯ ШТИИНЦЕ БИОЛОЖИЧЕ ШИ КИМИЧЕ

# ИЗВЕСТИЯ

АКАДЕМИИ НАУК МОЛДАВСКОЙ ССР

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ НАУК

**6** 1989  
(243)

Научно-теоретический журнал

Основан в январе 1948 года

Выходит шесть раз в год



Кишинэу  
«Штиинца»  
Кишинев

totrophity of the bacteria test strain increases 10—20 fold as compared with the spontaneous level of mutation. The mutagenic soils background in the period of harvesting (September) constitutes a value as large as that after 40 days of introduction (June). The question about

the consequences for the soil biota after the mutagenic saturation of the habitat from the point of view of soil fertility protection arises.

Отдел микробиологии АН МССР,  
Кишиневский сельскохозяйственный  
институт им. М. В. Фрунзе

Поступила 03.04.89

Т. Н. РУСНАК, П. А. КОЖЕВИН

## ДИНАМИКА ПОПУЛЯЦИИ «ЛЕД-ПЛЮС» БАКТЕРИЙ В ПОЧВЕ

В последнее время установлено, что некоторые микроорганизмы, и прежде всего представители рода *Pseudomonas* (*Ps. syringae*, *Ps. fluorescens* и другие виды флуоресцирующих псевдомонад), способны служить центрами образования льда в переохлажденной воде [5, 6]. Интерес к таким микроорганизмам в первую очередь определяется тем, что именно с их присутствием связывают гибель и повреждение растений при заморозках [4]. С практической точки зрения, разработка специальных приемов регуляции качественного состава эпифитной микрофлоры может позволить повысить устойчивость сельскохозяйственных растений к замерзанию. Однако отсутствует ясное понимание экологии «лед-плюс» популяций, не изучена их динамика в природе, в том числе в почве, на растениях, в природных водах и т. д.

Целью нашей работы было выделение одной из микробных популяций, инициирующих образование кристаллов льда, и изучение ее динамики в почве методом генетической маркировки.

### Материалы и методы

В качестве образцов для исследования использовали ризосферную почву, корни и листья сои. Посев проводили на среде Кинга, чашки просматривали под УФ-лампой СВД-120 и отбирали колонии с ярким свечением, грамотрицательные бактерии проверяли в капельном тесте на кристаллообразование переохлажденной воды [6]. Для выявления микроорганизмов использовали метод генетической маркировки по устойчивости к стрептомицину

(1000 мкг/мл). С этой целью провели отбор спонтанного мутанта [2]. Основные эксперименты были поставлены как в лабораторных условиях с нестерильными образцами чернозема и дерново-подзолистой почвы, которые инкубировали при комнатной температуре, так и в мелкоделяночном опыте на дерново-подзолистой почве почвенного стационара МГУ им. М. В. Ломоносова. Статистическая обработка данных проведена на микрокалькуляторе «Электроника» МК-54 и включает определение средних, дисперсии и доверительных интервалов [1].

### Результаты и их обсуждение

Среди выделенных культур обнаружена популяция *Pseudomonas* sp., которая в капельном тесте существенно ускоряла процесс образования льда. Более подробная проверка включала определение среднего времени замерзания капель в зависимости от численности популяции по сравнению с контролем (вода). Среднее время замерзания воды составляет  $3,84 \pm 0,36$ . При внесении клеток на уровне  $10^6$  этот показатель существенно снижается почти на 1 мин и составляет  $2,93 \pm 0,38$ . Еще меньше времени требуется для кристаллизации при более обильном внесении  $10^8$  клеток —  $2,53 \pm 0,3$ . Такое же действие оказывают и мертвые клетки (предварительно убитые кипячением) —  $2,9 \pm 0,28$ . Таким образом, удалось выделить популяцию, клетки которой достоверно ускоряют процесс кристаллообразования в переохлажденной воде.

При анализе способности популяции к выживанию при голодании в стерильной водопроводной воде (рис. 1)

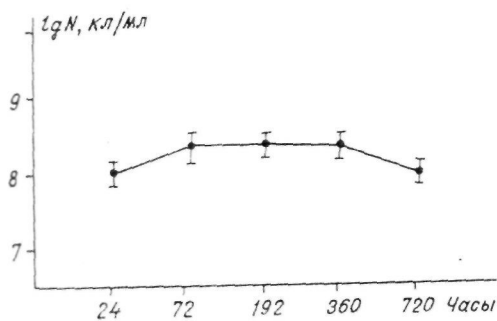


Рис. 1. Выживание популяции при голодании

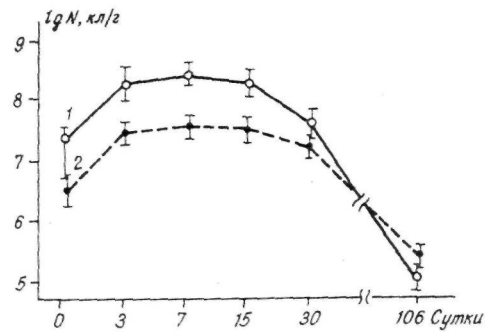


Рис. 2. Динамика популяции в черноземе:

1 — высокий уровень внесения; 2 — низкий уровень внесения

выяснено, что популяция достаточно хорошо сохраняется и в таких условиях.

Иная динамика наблюдается в почве (рис. 2). Эксперименты проведены на двух уровнях внесения. В черноземе в течение семи суток инкубации наблюдается достоверное увеличение популяционной плотности более чем на порядок. Достоверные различия между вариантами с разной исходной численностью регистрировались в течение 15 суток, так что численность в варианте с обильным внесением по-прежнему примерно на порядок превышала таковую в варианте с низкой начальной численностью. Через месяц показатель обилия в рассматриваемых вариантах не различается, а к 106 суткам численность популяции остается достаточно высокой и составляет  $10^5$  кл/г почвы.

Учитывая, что популяция достаточно хорошо сохраняется при голодании, снижение ее численности в почве скорее всего связано не только с дефицитом ресурсов в почве, но и с действием неблагоприятных факторов, в чис-

ло которых могут входить хищничество и антагонизм со стороны обитателей почвы.

О том, что популяция в почве испытывает дополнительные стрессы, свидетельствуют опыты по определению вероятности размножения  $\lambda$ . Этот показатель вычисляется на основе расписания появления колоний на питательной среде [2]. Согласно модели Хаттери, чем выше этот показатель, тем более активна популяция. В наших экспериментах (рис. 3) оказалось, что в дерново-подзолистой почве для молодой культуры  $\lambda$  достигает  $0,175 ч^{-1}$ , а в конце опыта эта величина существенно снижается и составляет около  $0,067 ч^{-1}$ . Таким образом, популяция в почве находится в более тяжелых условиях по стрессовой напряженности по сравнению с условиями лабораторного опыта по голоданию.

Зависимость динамики от уровня внесения прослеживается и в опыте с дерново-подзолистой почвой (рис. 4).

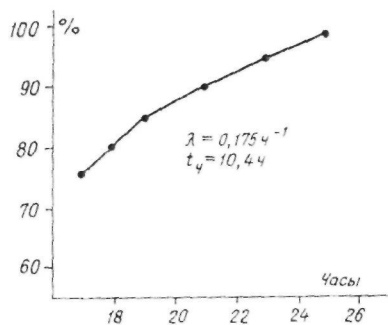


Рис. 3. Расписание появления колонии для 3-суточной культуры

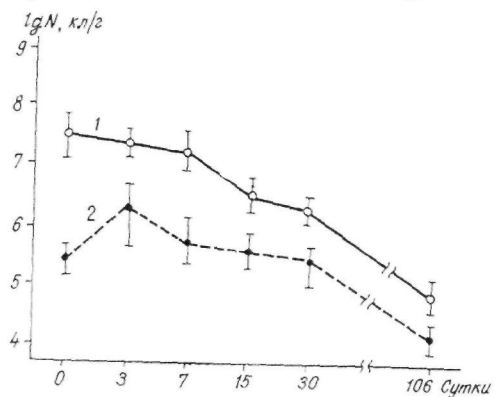


Рис. 4. Динамика популяции в дерново-подзолистой почве (лабораторный опыт). Обозначения см. рис. 2

В течение месяца численность популяции в варианте с обильным внесением существенно превышала таковую в варианте с низким уровнем внесения, а затем прослеживается тенденция к достижению единого уровня. Если сравнивать динамику двух почв, то дерново-подзолистая почва представляется более неблагоприятной средой по сравнению с черноземом. Здесь не зарегистрировано столь же выраженное увеличение численности и, более того, при обильном внесении численность популяции в дерново-подзолистой почве сокращается с самого начала опыта.

Полученные нами данные позволяют перейти к целенаправленному изучению «лед-плюс» бактерий в природе.

### Выводы

1. Из комплекса микроорганизмов, выделенных из ризопланы, ризосферы и филлосферы сои, отобрана популяция флуоресцирующих бактерий, которые могут служить центрами кристаллизации в переохлажденной воде.
2. Выделенная популяция ускоряет процесс образования льда на 1—2 мин, причем эффект зависит от численности клеток и регистрируется при работе как с живыми, так и с мертвыми клетками.
3. В достаточно продолжительном опыте (106 суток) показано, что популяция сохраняется в природной среде на относительно высоком уровне — около  $10^5$  кл/г почвы. Чернозем является более благоприятной средой для

нее по сравнению с дерново-подзолистой почвой.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М., 1985.
2. Класен В. П. // Труды ЛСХА. 1974. Вып. 85. С. 9—12.
3. Кожевин П. А. и др. // ДАН СССР. 1987. Т. 297. № 5. С. 1247—1249.
4. Goyse Ch. // Nev. Sci. 1987. 30 April. Vol. 24. P. 27—33.
5. Lindemann G., Constantinidou H., Barchet W., Upper C. // Appl. Environ. Microbiol. 1982. Vol. 44. N 5. C. 1059—1063.
6. Lindow S., Arny D., Upper C. // Appl. Environ. 1978. Vol. 36. N 6. P. 831—834.

### Резюме

Популяция де бактерий флуоресценте, екстракт дин ризосфера рэдэчинилор де сол поате серви дрепт центру де кристалizare ын апэ супраэчитэ ши сэ акчелерезе прочесул де формаре а гецей.

Ку ажуторул маркэрий жететиче а фост студиятэ динамика популяций ын доуэ типурь де сол. С'а стабилит, кэ чернозёмул конституе ун медиу май фаворабил пентру крештерэ ши дезволтаря популяций черчетате ын компарацие ку подзолул ынцеленит.

### Summary

The population of fluorescing bacteria picked out of rhizoplane, rhizosphere and phyllosphere of soy, may serve as a centre of crystallization in overcooled water and speed the process of ice formation. The dynamic of population in two types of soil was studied by the genetic method of marking. The black-earth has been shown to be a more favourable environment for the growth and development of the given population as compared with the turfpodzolic soil.

Отдел микробиологии АН МССР.  
Московский государственный университет  
им. М. В. Ломоносова

Поступила 19.04.89

А. А. ДВОРНИНА, С. Н. КУШНИР

## ГЛУБИННОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ — ПРОДУЦЕНТОВ БЕЛКА

Перспективными микологическими объектами для поверхностного и глубинного культивирования с целью получения дополнительных источников белка являются съедобные базидиальные грибы.

Поверхностное культивирование, из-

вестное более 300 лет, представляет собой промышленное выращивание ценных съедобных грибов в искусственной культуре с целью получения плодовых тел. В настоящее время промышленное производство высших съедобных грибов во многих странах ми-