

Микробиология. М., 1994. Т.64. Вып.2. С.382-384.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 579.87.014

(с) 1994 г.

МИПЬКО Е. С., ЕГОРОВ Н. С.

ГИДРОФИЛЬНО-ГИДРОФОВНЫЕ И АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА ДИССОЦИАНТОВ RHODOCOCCLUS RUBROPERTINCTUS

Диссоциативные переходы бактерий определяются геномными перестройками, которые обладают плеiotропным действием и приводят к различиям у вариантов прежде всего в клеточных оболочках: в размере и составе капсулы, клеточной мембраны. Это обуславливает постоянные и обратимые изменения многих физиолого-биохимических и морфологических свойств диссоциантов [1, 4]. Одними из таких признаков, важных с точки зрения экологии и биотехнологии, являются гидрофильно-гидрофобные и адгезивные свойства бактерий.

Показано, что клетки R-варианта более гидрофобны, чем S-варианта у следующих бактерий: *Proteus mirabilis* [10], *Streptococcus lactis*, *Bacillus licheniformis*, *B. uringiensis* [6], *Staphylococcus aureus* [8], *Pseudomonas aeruginosa* [5]. Установлена корреляция между гидрофобностью клеток и их способностью к адгезии [1, 2, 7]. Целью настоящих исследований является сравнение гидрофильно-гидрофобных адгезивных свойств R-, S- и M-диссоциантов *Rhodococcus rubropertinctus* 104 - продуцента ряда практически ценных веществ и активно утилизирующего углеродороды. Некоторые генетические, физиолого-биохимические и морфологические различия диссоциантов этого штамма, в том числе особенности их клеточных оболочек, описаны ранее [4].

*R. rubropertinctus* выращивали на МПБ + сусло (1:1) в пробирках на качалке. Для равномерного роста R-варианта в пробирки вносили стеклянные шарики. Клетки культуры в экспоненциальной фазе роста отделяли центрифугированием, 2 раза мыли стерильным фосфатным буфером (рН 7,1) и затем в нем суспендировали. Гидрофильность - гидрофобность клеток оценивали методом Розенберга [11] - долей клеток, перешедших из бактериальной суспензии в гексадекан при их смешивании в соотношении 4 : 1 в стерильном шприце в течение 5 мин. Число клеток и соотношение диссоциантов в водной фазе определяли расходом на МПА + сусло после серии десятикратных разведений в физиологическом растворе. Для определения способности диссоциантов к адгезии к стеклу [2] их выращивали и суспендировали описанным выше способом. В чашки Петри одинакового диаметра помещали обезжиренные предметные стекла, вносили по 30 мл суспензии и каплю толуола. Начальное количество клеток в суспензии определяли по счетам на окрашенных препаратах. Чашки оставляли на 18 ч при комнатной температуре, затем стекла промывали в течение 20 с под струей водопроводной воды. Оставшиеся на стекле клетки фиксировали, окрашивали и подсчитывали микроскопом в 50 полях зрения. Степень адгезии выражали отношением клеток, прикрепившихся на единицу поверхности стекла, к общему количеству клеток, находящихся в условном столбе жидкости над единицей поверхности. Проведенные исследования показали, что наиболее высоким показателем гидрофобности обладают клетки R-варианта родококка (табл. 1), которые почти полностью переходят из суспензии в гексадекан. Наименьшая гидрофобность обнаружена у клеток самого слизистого M-варианта, они практически не переходят в водородородную фазу. Если R- и S-диссоцианты других видов бактерий раз-

личаются по гидрофобности в два-пять раз [6], то клетки R-варианта *R. rubropertinctus*, содержащие в оболочке наибольшее количество липидов и имеющие минимальную капсулу, в десять раз более гидрофобны, чем M-вариант. После встряхивания суспензии клеток родококка с гексадеканом происходит изменение соотношения диссоциантов в водной фазе (табл. 2): снижение количества клеток R-варианта и увеличение M. Количество клеток S-варианта возрастает в популяции R-диссоцианта и уменьшается в популяции M-диссоцианта. При определении адгезивных свойств *R. rubropertinctus* первоначальное количество клеток R-, S- и M-вариантов в суспензии составляло  $2-4 \cdot 10^8$  в 1 мл. После длительного контакта со стеклом (18 ч), позволяющего определить необратимую адгезию клеток [9], подавляющая часть клеток родококка смывается водой. Ранее было показано, что корине- и нокардиоподобные бактерии также относятся к группе слабо адгезируемых микроорганизмов [2, 3]. У диссоциантов *R. rubropertinctus* на

фоне крайне низкой способности к адгезии отмечается большая адгезивность гидрофильных М-клеток по сравнению с гидрофобными R-клетками (табл. 1). Таким образом, полученные данные показывают, что гидрофильно-гидрофобные свойства поверхности клеток диссоциантов *R. rubropertinctus* 104 сильно различаются: в виде R-формы его можно отнести к гидрофобным микроорганизмам, а в виде М-диссоциантов - к гидрофильным. Такая гетерогенность популяции бактерий, видимо, расширяет возможности вида выжить в естественных местах обитания, в том числе в водных экосистемах, загрязненных углеводородами, активными разрушителями которых являются родококки. Из полученных данных следует также, что при определении гидрофобности разных видов диссоциирующих бактерий необходимо сравнивать их одинаковые варианты. Различия диссоциантов по гидрофильно-гидрофобным свойствам необходимо учитывать и в биотехнологических процессах при флотационном разделении клеток или при взаимодействии их с сорбентами.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беляков В. Д., Голубев Д. Б., Каминский Г. Д., Тец В. В. Саморегуляция паразитарных систем. Л.: Медицина, 1987. 239 с.
2. Данилова И. В., Ботвинко И. В., Егоров Н. С. //Микробиология. 1993. Т. 62. Вып. 4. С. 685.
3. Звягинцев Д. Г. //Микробиология. 1959. Т. 28. Вып. 1. С. 112.
4. Милько Е. С., Егоров Н. С. Гетерогенность популяции бактерий и процесс диссоциации. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1991. 142 с.
5. Настоящая Н. И. Морфолого-биохимические изменения культуры *Pseudomonas aeruginosa* - деструктора АПАВ. Ин-т коллоидной химии и химии воды АН Украины: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Минск, 1992. 19 с.
6. Стабникова Е. В., Милько Е. С., Грегирчак. Н. Я. //Микробиол. журн. 1991. Т. 53. № 4. С. 52.
7. Dastani A., Hingst K. //Zbl. Bakteriол. 1990. V. 273. № 1. P. 79.
8. Jonsson P. Virulence determinants of *Staphylococcus aureus*. Virulence studies of alpha-toxin, coagulase, and protein A mutants and recombinants and studies of cell surface hydrophobicity. Uppsala, 1986. 68 p.
9. Michiels K. W., Croes C. L., Vanderleyden J. //3. Gen. Microbiol. 1991. V. 137. № 9. P. 2241. Rosenberg M., Rottem S., Rosenberg B. //FEMS Microbiol. Lett. 1982. V. 13. № 2. P. 167.
- 10
11. Rosenberg M., Rosenberg E. //Oil and Petro Chem. Pollut. 1985. V. 2. № 3. P. 155.

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова Биологический факультет

Поступила в редакцию 26.V.1993

Рецензент Т. В. Коронелли

Таблица 1

Гидрофильно-гидрофобные и адгезивные свойства диссоциантов *R. rubropertinctus*

Диссоциант	Гидрофобность	Способность к адгезии, ( $\cdot 10^{-7}$ )
R	0,86 $\pm$ 0,13	1,5 $\pm$ 0,3
S	0,39 $\pm$ 0,13	6,0 $\pm$ 0,9
M	0,09 $\pm$ 0,10	15,1 $\pm$ 1,5

Таблица 2

Влияние гексадекана на соотношение диссоциантов *R. rubropertinctus* в водной фазе

Исходный диссоциант	Повторность опыта	Наличие гексадекана	Соотношение диссоциантов, %		
			R	S	M
R					
	1	-	100	0	0
	1	+	100	0	0
	2	-	99,6	0,4	0
	2	+	98,9	1,1	0
	3	-	100	0	0
	3	+	99,7	0,3	,
S					
	1	-	0,8	98,9	0,3
	1	+	0	99,0	1,0
	2	-	0	100	0
	2	+	0	99,5	0,5
	3	-	0,3	99,4	0,3
	3	+	0	99,5	0,5
M					
	1	-	0	0	100
	1	+	0	0	100
	2	-	0	0,2	99,8
	2	+	0	0	100
	3	-	0	0,3	99,7
	3	+	0	0	100