

ЛИТЕРАТУРА

1. Ludwig Robert A.—J. Bacteriol., 1978, v. 135, p. 114.
2. Kleiner D.—Arch. Microbiol., 1979, v. 120, p. 263.
3. Salminen S. O.—Biochim. et biophys. acta, 1981, v. 658, p. 1.
4. Шильникова В. К., Сидоренко О. Д., Эргашева Н. А.—Биол. науки. 1971, № 9, с. 78.
5. Гордеев Н. Я., Яковлева З. М.—Изв. АН СССР. Сер. биол., 1979, № 3, с. 466.
6. Dazzo Frank B., Hrabak Estelle M., Urbano Maria R.—Proc. 4 Int. Symp. Nitrogen Fixat., Canberra, 1980; Amsterdam e. a., 1981, p. 292.
7. Dazzo Frank B., Hubbell David.—Appl. Microbiol., 1975, v. 30, p. 1017.

УДК 579.6 : 577.1

Т. Е. ЛОБАНОВ, Л. Ф. ИГНАТОВИЧ

РОСТ БАКТЕРИЙ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ НА ПОСЛЕСПИРТОВОЙ БАРДЕ

Характерной особенностью микроорганизмов является разнообразие типов питания, что позволяет использовать для их культивирования различные питательные среды. При выборе сырья, используемого для выращивания микроорганизмов, исходят из принципов его дешевизны, безвредности и воспользовности. С этой точки зрения особый интерес представляет использование отходов различных производств и, в частности, отходов пищевой промышленности.

Некоторые отходы переработки пищевых продуктов (картофельная мезга, соковые воды картофеля, молочная сыворотка, меласса и др.) используются для выращивания микроорганизмов и получения микробного белка, другие скармливаются скоту в нативном виде или выбрасываются. К числу последних относится отход спиртового производства — барда.

Барда представляет собой сложную гетерогенную систему, состоящую из жидкой и твердой фаз, в состав которых входит целый комплекс соединений. Поскольку для изготовления спирта используются различные виды пищевого сырья, состав послеспиртовой барды неодинаков. Барда в среднем состоит из 90—96 % воды и 4—10 % сухих веществ, включающих клетчатку, гемицеллюлозу, крахмал, спирторастворимые сахара, декстрины, пентозы, пентозаны, жир, а также небольшие количества аминокислот и минеральных солей [1]. Ввиду того, что барда содержит все необходимые для роста микроорганизмов вещества, целью настоящей работы явилось изучение ее пригодности для использования в качестве питательной среды для культивирования бактерий, принадлежащих к различным таксономическим группам.

Материал и методика

Для выращивания бактерий в качестве жидкой питательной среды использовали пшеничную барду, которую разводили в четыре раза дистиллированной водой, после чего рН доводили до 7,2. Предварительно барду центрифугировали для освобождения от твердой фазы. Плотную питательную среду готовили путем добавления к отцентрифугированной и разведенной водой барде агар-агара (15 г на 1 л барды). Среды стерилизовали дробно путем двукратного автоклавирования при 0,5 атм по 20 мин.

Для контрольных посевов использовали жидкую полноценную питательную среду (АМП-бульон), приготовленную на основе аминокислотного пептона; до 1,8 л дистиллированной воды, рН 7,2; и агаризованную среду, так называемый рыбный агар (РА), приготовляемый из гидролизата кильки по стандартной прописи.

Для обогащения барды использовали две прописи солей, первая из которых (среда Канада) [2] включала: (г/л) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2,0; NaCl 0,5;

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,025; $FeSO_4$ 0,01; KH_2PO_4 (безводный) 2,0; вторая (среда № 10) [3] представляла смесь солей: (г/л) $(NH_4)_2SO_4$ 3,0; KH_2PO_4 (безводный) 4,0; K_2HPO_4 (безводный) 3,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,1; $Al_2(SO_4)_3$, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ по 0,5 мг на 1 л барды.

Условия культивирования бактерий на барде и бульоне, приготовленном на основе аминокислоты, были однотипны: петлю культуры вносили в 3 мл жидкой питательной среды, посеы инкубировали в течение ночи при температуре, оптимальной для изучаемых бактерий (37 и 28 °С), ночные культуры разводили 1 : 10 (общий объем 10 мл) свежей питательной средой и выращивали в колбочках на 50 мл на качалке при оптимальной для штамма температуре в течение 30 ч, после чего определяли количество живых клеток в мл культуральной жидкости путем посева проб из соответствующих разведений на плотную питательную среду (рыбный агар или агар, приготовленный на основе барды). В процессе культивирования бактерий регистрировали изменение рН среды.

Накопление микробной биомассы определяли весовым методом [4].

В качестве тест-культур использовали бактериальные штаммы, сведения о которых представлены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1

Характеристика использованных в работе штаммов бактерий

Штаммы	Генотип	Место получения
<i>Ps. syringae</i> 345	прототроф	ВНИИ фитопатологии, ст. Голицино
<i>Ps. putida</i> В-21	то же	Институт биохимии и физиологии микроорганизмов. Пущино
<i>Ps. fluorescens</i> 32	»	Проблемная лаборатория экспериментальной биологии БГУ имени В. И. Ленина, Минск
<i>E. carotovora</i> 8526	»	Институт микробиологии АН УССР, Киев
<i>E. herbicola</i> ЕН-103	»	Международная коллекция фитопатогенных бактерий, США
<i>Ps. aeruginosa</i> РАО-1	»	ВНИИ Генетика
<i>E. coli</i> К-12 В-588	lys	то же
<i>Bac. subtilis</i> В-103	trp	— » —
<i>E. coli</i> К-12 W 1485	met	Институт общей генетики АН СССР, Москва
<i>E. carotovora</i> 8526	his	Получен из штамма <i>E. carotovora</i> 8526 в лаборатории Минского опорного пункта ВНИИ-генетика

Результаты и их обсуждение

Первоначально была изучена способность прототрофных бактерий различных видов расти на барде, разведенной водой в четыре раза, и формировать колонии на агаризованной среде того же состава. Те же штаммы параллельно выращивали на АМП-бульоне с последующим высевом на рыбный агар (РА). Все шесть изучаемых культур могли использовать в качестве пищевого субстрата барду, разведенную в четыре раза водой (табл. 2). Однако в большинстве случаев после 30 ч инкубирования бактериальных культур число клеток в мл барды на порядок меньше, чем количество клеток в мл среды на основе АМП-бульона.

В процессе роста изучаемых бактериальных штаммов наблюдалось подщелачивание как АМП-бульона, так и барды с рН 7,2 до 8,0—9,0 и 7,5—8,0 соответственно. Причем чем активнее росли культуры, тем сильнее изменялось рН среды в щелочную сторону.

Следует также отметить, что на агаризованной среде, приготовленной на основе барды, колонии формировались позже, чем на рыбном агаре. Как правило, даже на вторые сутки величина колоний, образо-

Результаты выращивания прототрофных бактерий на различных средах

Штаммы	Число кл/мл на различных средах			
	АМП-бульон	барда	канеда	№ 10
<i>Ps. syringae</i> 345	$2,1 \cdot 10^9$	$4,8 \cdot 10^8$	$4,5 \cdot 10^8$	$3,8 \cdot 10^8$
<i>Ps. putida</i> B-21	$1,9 \cdot 10^9$	$4,7 \cdot 10^8$	$5,5 \cdot 10^8$	$5,8 \cdot 10^8$
<i>Ps. fluorescens</i> 32	$7,1 \cdot 10^9$	$3,3 \cdot 10^8$	—	—
<i>Ps. aeruginosa</i> PAO-1	$4,7 \cdot 10^9$	$3,3 \cdot 10^9$	$2,3 \cdot 10^9$	$2,1 \cdot 10^9$
<i>E. herbicola</i> EH-103	$5,0 \cdot 10^9$	$6,4 \cdot 10^8$	$1,2 \cdot 10^9$	$4,9 \cdot 10^9$
<i>E. carotovora</i> 8526	$3,6 \cdot 10^9$	$1,1 \cdot 10^9$	$4,4 \cdot 10^9$	$4,4 \cdot 10^9$

Примечание. Здесь и в табл. 3, 4 приведены средние величины трех измерений; в скобках указана кратность разведения барды водой; прочерк — измерение не проводилось.

вавшихся на плотной питательной среде, приготовленной на основе барды, была меньше, чем колоний, формирующихся на рыбном агаре.

Обогащение барды комплексом минеральных соединений [2] и [3] не привело к увеличению числа бактериальных клеток по сравнению с таковым при культивировании штаммов на необогащенной барде (см. табл. 2). Исключение составил штамм *E. herbicola* EH-103, число клеток которого в мл барды увеличилось после добавления к ней минеральных добавок.

Т а б л и ц а 3

Результаты выращивания ауксотрофных штаммов на различных средах

Штаммы	Число кл/мл на различных средах		
	АМП-бульон	барда (1 : 4)	барда (1:2)
<i>E. coli</i> W 1485 met	$6,1 \cdot 10^9$	$7,6 \cdot 10^6$	—
<i>Bac. subtilis</i> B-103 trp	$8,1 \cdot 10^8$	$2,3 \cdot 10^8$	$1,9 \cdot 10^8$
<i>E. coli</i> B-558 lys	$4,2 \cdot 10^9$	$1,1 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^7$
<i>E. carotovora</i> 8526 his	$5,4 \cdot 10^9$	$1,3 \cdot 10^9$	$6,7 \cdot 10^8$

Отсутствие стимулирующего эффекта комплекса минеральных солей на рост культур могло свидетельствовать о том, что барда содержит в своем составе достаточное количество неорганического азота, фосфора и других элементов, но в ней недостает каких-то органических компонентов. С целью проверки этого предположения были проведены эксперименты по выращиванию в барде бактерий, зависимых по некоторым аминокислотам (табл. 3). Как видно из данных табл. 3, метионин и лизин содержатся в барде в недостаточном количестве, в то же время концентрация триптофана и гистидина позволяет расти бактериям, зависимым по этим аминокислотам. Повышение концентрации аминокислот за счет меньшего разведения барды водой (в два раза) практически не отражалось на эффективности роста бактерий, зависимых по триптофану и гистидину, и способствовало росту бактерий, зависимых по лизину (см. табл. 3).

Поскольку сам по себе факт роста бактерий на барде еще недостаточен для заключения о пригодности этого пищевого субстрата для культивирования микроорганизмов, была изучена продуктивность некоторых штаммов бактерий на барде в сравнении с таковой на АМП-

Накопление микробной биомассы на различных средах

Штаммы	Биомасса, г/л	
	АМП-бульон	барда (1 : 4)
<i>Ps. syringae</i> 345	1,8	0,4
<i>Ps. putida</i> B-21	1,4	0,4
<i>Ps. aeruginosa</i> PAO-1	4,3	1,0
<i>E. carotovora</i> 8526	3,3	0,6
<i>E. herbicola</i> EH-103	2,5	0,5

бульоне, регистрируемая по накоплению биомассы. Как видно из табл. 4, выход биомассы бактерий, культивируемых на барде, был в несколько раз ниже, чем при выращивании их на полноценной среде, приготовленной на основе аминокислоты.

Таким образом, из результатов проведенного исследования очевидно, что послеспиртовая барда, являющаяся отходом производства, может служить субстратом для выращивания бактерий, принадлежащих к различным таксономическим группам, независимых по факторам роста. Однако в силу незначительного накопления на ней микробной биомассы, использование ее для получения микробного белка нецелесообразно.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Мосичев М. С., Складнев А. А., Котов В. Б. Общая технология микробиологических производств. — М., 1982, с. 95.
2. Kaneda T., Rouxburg J.—Canad J. Microbiol., 1959, v. 5, p. 87.
3. Yamada S., Nabe K., Wada M., Chibata J.—J. Ferment. Technol., 1977, v. 55, p. 436.
4. Иерусалимский Н. Д. Основы физиологии микробов.— М., 1963, с. 52.

УДК 630.164.7 : 630.177.952

В. В. ЧЕРНИК

**ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ И СТРОЕНИЯ ЗАРОДЫШЕЙ
У ЛИП ЕВРОПЕЙСКОЙ И МЕЛКОЛИСТНОЙ
(*Tilia Europaea* L., *T. Cordata* Mill.)**

Липа имеет большое значение в зеленом строительстве. Это одна из наиболее теневыносливых и газоустойчивых пород. Растения хорошо переносят условия городской среды. Размножаются главным образом семенами. Однако для семян характерен комбинированный покой, обусловленный действием нескольких механизмов [1]. Изолированные зародыши к нормальному росту также не способны; их удается прорастить лишь при использовании искусственной питательной среды [2]. Для понимания причин глубокого покоя необходимы как физиолого-биохимические, так и анатомо-морфологические исследования (в том числе и исследования особенностей строения зародыша на различных стадиях эмбриогенеза). Имеющиеся в литературе анатомо-морфологические сведения касаются главным образом строения зрелых плодов и семян [3—5].

Материал и методика

Объектами нашего трехлетнего исследования (1981—1983) послужили экземпляры лип европейской (*Laciniata*) и мелколистной, произрастающие на территории Центрального ботанического сада АН БССР. Основные исследования были проведены на продольных и поперечных