

Исходя из численности и частоты встречаемости изученных видов бактерий, следует считать доминирующими видами для целинных торфяно-болотных почв низинного типа *Vac. caryus* и *Vac. mycoides*, для окультуренных — *Vac. megaterium* и *Vac. mesentericus*.

По аммонифицирующей способности в чистой культуре выделенные виды существенно не различались (см. табл. 3). Это дает основание полагать, что повышение интенсивности аммонификации в окультуренных торфяно-болотных почвах обусловлено в основном увеличением численности аммонифицирующих бактерий.

Таким образом, общая численность и наличие специфических индикаторных видов аммонифицирующих бактерий могут служить основным диагностическим тестом состояния биологической активности торфяно-болотных почв.

ЛИТЕРАТУРА

1. Умаров М. М., Асеева И. В.— Почвоведение, 1970, № 2, с. 106.
2. Лазарева В. В.— Почвоведение, 1972, № 5, с. 678.
3. Miller W. N., Casida L. E.— Can. J. Microbiol., 1970, v. 16, p. 299.
4. Swift M. J.— Soil Biol. Biochem., 1973, v. 5, p. 321.
5. Ausmus B. S.— In: Modern methods in the study of microbial ecology. Sweden. *03 143.
6. Асеева И. В., Панников Н. С.— В сб.: Проблемы и методы биологической диагностики и индикации почв. М., 1976, с. 54.
7. Зименко Т. Г. Микробиологические процессы в мелиорированных торфяниках Белоруссии и их направленное регулирование.— Минск, 1977, с. 205.
8. Колешко О. И., Иванов Н. П.— Докл. АН БССР, 1975, т. 19, № 6, с. 548.
9. Калешка О. И., Иваноу М. П.— Весці АН БССР. Сер. с.-г. навук, 1975, № 2, с. 70.
10. Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов / Под ред. Н. П. Красильникова.— М., 1966, с. 216.
11. Мишустин Е. Н., Никитин Д. И., Востров Н. С.— Доклады симпозиума по ферментам почвы. Минск, 1968, с. 144.
12. Востров Н. С., Петрова А. Н.— Микробиология, т. 30, вып. 4, с. 665.
13. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов.— М., 1949.
14. Bergeys manual of determinative Bacteriology.— Baltimore, 1974.

Поступила в редакцию
01.10.80.

Кафедра микробиологии

УДК 663.18:599.322

Т. А. РЯБУШКО, Н. В. МАЙОРОВА, Л. Ф. ИГНАТОВИЧ

ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТАНОЛУТИЛИЗИРУЮЩИХ ПСЕВДОМОНАД

Микробиологический синтез белка на метаноле — перспективная задача, успешное решение которой обеспечит дешевое получение больших количеств белковых препаратов, пригодных для пищевых, кормовых или технических целей.

Основными вопросами, подлежащими обязательному изучению, являются подбор микроорганизмов-продуцентов белка на метаноле, выяснение оптимальных условий культивирования, изучение их физиолого-биохимических особенностей и разработка способов повышения их продуктивности.

Цель настоящего исследования — характеристика ростовых особенностей некоторых метанолутилизирующих псевдомонад.

Материал и методика

Объектом исследования служили метанолутилизирующие псевдомонады, изолированные методом накопительных культур из сточных вод Минского завода медпрепаратов.

Питательную среду для культивирования псевдомонад готовили по прописи [1]; культуры выращивали по методике [2]. Для определения

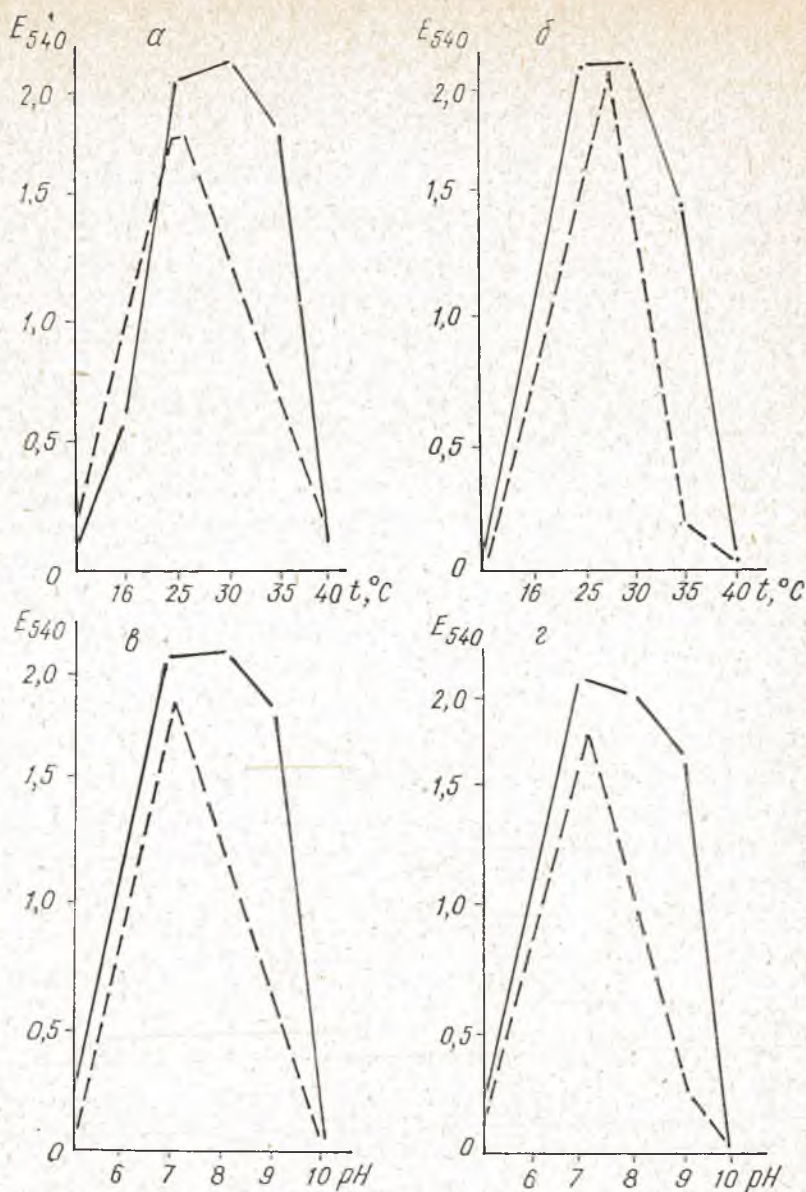


Рис. 1. Рост некоторых штаммов псевдомонад при различных значениях температуры и pH питательной среды:

α ---- штамм 13, ——— штамм 14; β ---- штамм 143, ——— штамм 1; γ ——— штамм 160, ---- штамм 19; δ ——— штамм 14, ---- штамм 226

удельной скорости роста культуры доводили до логарифмической стадии, затем переседали на свежую питательную среду, подогретую до $28^\circ C$ и культивировали на качалках (120 кач/мин) в течение 7 ч. Чтобы получить статистически достоверные данные, пользовались методом наименьших квадратов [3].

С целью изучения ростовых особенностей исследуемые культуры выращивали при различных исходных значениях pH среды (6, 7, 8, 9, и 10); при температуре 16, 25, 30, 35 и $40^\circ C$, а также различной концентрации метанола в среде (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 % по объему). Метанол добавляли в стерильную среду непосредственно перед посевом культуры.

Изучено влияние добавок дрожжевого и кукурузного экстрактов (0,1; 0,3; 0,5 и 1 % -ной концентрации) на рост исследуемых культур. Экстрак-

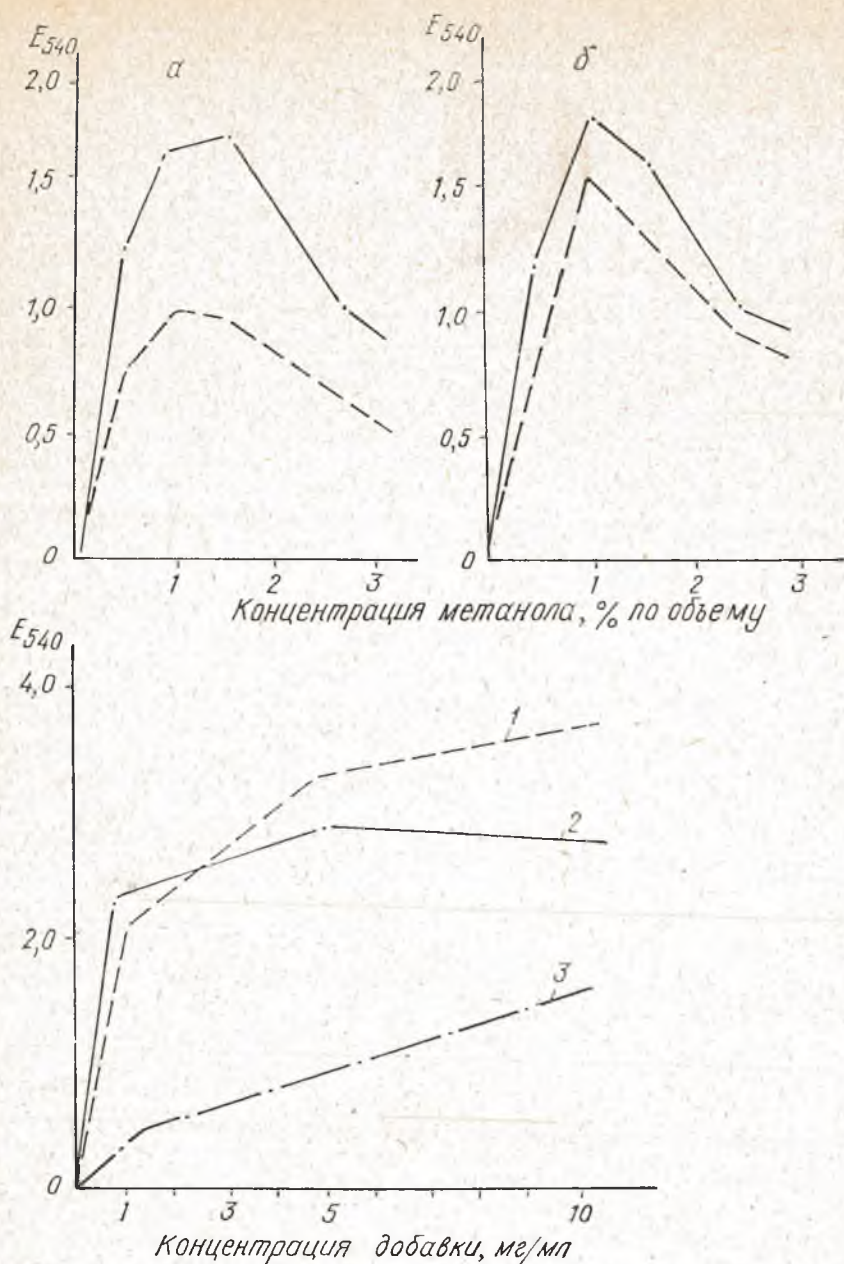


Рис. 2. Рост некоторых штаммов псевдомонад при различных концентрациях метанола в среде:

a ———— штамм 13, ---- штамм 250; b ———— штамм 160, ---- штамм 76 а

Рис. 3. Влияние различных концентраций кукурузного и дрожжевого экстракта на рост штамма 143:

1 — минеральная среда с 1% метанола и кукурузным экстрактом; 2 — минеральная среда с 1% метанола и дрожжевым экстрактом; 3 — минеральная среда с 1% метанола (контроль)

ты стерилизовали кипячением в течение 30 мин и добавляли в соответствующих концентрациях к основной среде перед посевом культуры.

Рост культур регистрировали по измерению оптической плотности культуральной жидкости на ФЭК-М56 ($E_{540\text{нм}}^{0,5\text{см}}$).

Накопление биомассы исследуемыми культурами определяли весовым методом [4], а белок биомассы — в щелочных экстрактах по методу Лоури [5]. Содержание белка в испытуемой пробе устанавливали по ка-

либровочной кривой для бычьего альбумина и выражали в процентах от количества сухой биомассы.

Результаты и их обсуждение

Как видно из приведенных на рис. 1 (а, б) примеров, наиболее хороший рост культур в условиях нашего эксперимента наблюдался при 25 и 30 °С. Оптическая плотность культуральной жидкости по сравнению с исходной у ряда культур увеличилась в 30—40 раз. Некоторые штаммы способны расти при 16, но при 40 °С рост исследуемых культур не обнаруживался.

Псевдомонады чувствительны к изменению реакции среды, в чем мы убедились, выращивая исследуемые штаммы на среде с различными исходными значениями рН. Кислая реакция среды (рН 6) тормозит размножение исследуемых псевдомонад (рис. 1 в, г). Оптическая плотность культуральной жидкости в таких условиях не превышает 1,0. Более интенсивный рост исследуемых штаммов отмечен при рН 7—8. У ряда штаммов оптическая плотность культуральной жидкости увеличилась по сравнению с исходной в 16—25 раз. Рост некоторых штаммов отмечен при рН 9, а при рН 10 — отсутствовал.

Нами исследован рост культур при различных концентрациях метанола в среде (рис. 2). Штаммы росли при всех испытанных концентрациях метанола, наиболее активно — при 1,0—2,0 %-ной концентрации метанола в среде.

Хотя исследуемые штаммы псевдомонад и растут на минеральной среде с метанолом в качестве единственного источника углерода и энергии, однако недостаточно обильно, поэтому мы изучали влияние органических добавок (кукурузного и дрожжевого экстрактов) на рост исследуемых культур. Как видно из рис. 3, добавка дрожжевого и особенно кукурузного экстракта (в конечной концентрации 0,5 %) выполняла функцию ростстимулирующего фактора, но не источника углерода, так как при удалении из среды метанола, рост культур на средах с органическими добавками оказался ниже, чем на среде с метанолом без органических добавок.

Содержание биомассы на среде с кукурузным экстрактом и метанолом у ряда культур достигало 3,5 г/л сухого веса и было в 1,5—2 раза больше, чем на среде без кукурузного экстракта. Биомасса исследуемых псевдомонад содержит от 50 до 70 % белка.

При исследовании роста культур в динамике их развития установлено, что график накопления биомассы в первые часы после посева представляет собой прямую линию в полулогарифмической системе координат (абсциссы — время, ординаты — натуральные логарифмы концентрации биомассы). Удельная скорость роста в такой системе вычисляется как коэффициент регрессии второго признака по первому. Используя метод наименьших квадратов, мы установили, что для большинства культур удельная скорость роста в условиях нашего эксперимента находится в пределах $0,25 \text{ ч}^{-1}$.

Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что в условиях описанного эксперимента оптимальны для роста исследуемых метанолутилизирующих псевдомонад температура 25 °С, рН 7—8, концентрация метанола в среде 1 % по объему. Добавка кукурузного или дрожжевого экстракта (0,5 %) к минеральной среде с метанолом оказывает ростстимулирующее действие.

Исследуемые штаммы псевдомонад накапливали до 3,5 г/л сухой биомассы, содержащей до 70 % белка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Yamada S., Nabe K., Wada M.—J. Ferment. Technol., 1977, v. 55, p. 436.
2. Рябушко Т. А., Пархомец М. И.—Вестн. Белорусского ун-та. Сер. 2, хим., биол., геогр., 1980, № 1, с. 40.
3. Плохинский Н. А. Биометрия.—М., 1970, с. 227.

4. Пименова М. Н., Гречушкина Н. Н., Азова Л. Г. Руководство к практическим занятиям по микробиологии.— М., 1971, с. 138.

5. Lougry O. H., Rosenbrough N. I., Fagg A. L., Randall R. I.—J. Biol. Chem., 1951, v. 193, p. 265.

Поступила в редакцию
09.09.80.

Кафедра микробиологии

УДК 576.809.56:3

Г. А. ИНКИНА, В. А. БАБИЦКИЙ

БАКТЕРИОПЛАНКТОН р. НЕМАН

В августе 1975 г. при комплексных гидробиологических исследованиях р. Неман проводилось изучение бактериопланктона. В предлагаемой статье состояние бактерий планктона реки характеризуется по данным общего счета микроорганизмов, времени удвоения их численности, интенсивности дыхания, эффективности использования усвоенной пищи на рост. Эти показатели лишь в малой мере использовались другими исследователями бактериопланктона рек.

Материал и методика

Общую численность бактериопланктона определяли прямым микроскопическим счетом на мембранных ультрафильтрах марки HUF5 Synrog-6 производство ЧССР (диаметр пор 0,4 мкм) по методу А. С. Разумова [1]. Подсчитывали 10 полей зрения на каждом фильтре (с помощью микроскопа МБР-3 при увеличении $\times 900$) при их общей площади 6160, 5 мкм²; ошибка счета при этом не превышала 3—6%. Объем клеток микроорганизмов вычисляли, измеряя бактерии с помощью окулярного микрометра МОВ-1-15. Биомассы определяли, не учитывая коэффициент усыхания бактерий А. С. Троицкого и Ю. И. Сорокина [2]. Время удвоения численности бактерий находили методом М. В. Иванова [3]. Эффективность использования бактериями ассимилированной энергии на рост устанавливали на основании экспериментальных величин дыхания клетки бактериопланктона и времени удвоения численности.

Результаты и их обсуждение

Общее число водных бактерий определяли на участке реки протяженностью 530 км от устья р. Березины до Каунасского водохранилища включительно, на 20 станциях.

В табл. 1 представлены данные, характеризующие количественное развитие бактериопланктона в разных пунктах реки вдоль по течению. Максимальная численность бактерий отмечена на станции выше г. Прейнай (12,86 млн. кл/мл), а также на участке реки от г. Бирштонаса (ст. 8) до Каунасского водохранилища (ст. 9). Самое низкое количество бактериопланктона (1,67 млн. кл/мл) найдено на станции 2 (2 км ниже д. Березовки). Невысокое содержание бактерий характерно также для ст. 10 (1,73 млн. кл/мл) и ст. 5 а (1,92 млн. кл/мл). Средняя величина численности бактериопланктона в воде реки в период наблюдений 4,24 млн.кл/мл.

Для пункта 1 в, где отмечалась максимальная концентрация бактерий, характерно массовое развитие фитопланктона. Возможно, здесь присутствовали прижизненные метаболиты фитопланктона, которые стимулировали рост микроорганизмов. Аналогичную картину наблюдал Овербек [4—6] на оз. Плюссзее.

Биомасса бактериопланктона в целом была невысокой: 0,42—3,27 мг/л, при среднем значении 1,07 мг/л (см. табл. 1). На большинстве исследованных участков реки преобладали кокки (объем клеток 0,20 мкм³)—78% общего числа бактерий; мелкие палочки (0,55 мкм³) составляли всего 18%.

Данные по концентрации бактерий и их биомассе в воде Каунасско-