

РАЗДЕЛ I. БИОЛОГИЯ

УДК 577.17.294

Агаева А.А.

Бакинский государственный университет (Азербайджан)

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПАРАМЕТРОВ НА ВЫХОД БИОМАССЫ АКТИНОМИЦЕТОВ РОДА *NOCARDIA*

A. Aghayeva

Baku State University, Azerbaijan

EFFECT OF DIFFERENT PARAMETERS ON THE BIOMASS YIELD OF ACTINOMYCETES OF THE *NOCARDIA* GENUS

Аннотация. В статье изучено действие начальной рН-, углеродной и алкановой сред на выход биомассы активных видов рода *Nocardia*, полученных из нефтезагрязненных почв различных территорий Апшеронского полуострова. Установлено, что развитие *Nocardia* зависит от источника углеводородов и от рН среды. Интенсивное развитие наблюдалось при оптимальных значениях рН в интервале для необработанной нефти – 4,5-7,7; для *n*-алканов – 6,0-7,0; для $C_{11}H_{24}$ – 5,5-5,7. По полученным результатам, отношение видов рода *Nocardia* к рН среды является ответом на эколого-географические условия.

Ключевые слова: *Nocardia*, рН, *n*-алканная среда, биомасса, липиды.

Abstract. We present the results of the effect of the initial pH, carbon and alkanolic media on the biomass yield of the active species of the genus *Nocardia*, derived from oil-contaminated soils of different areas of the Apsheron Peninsula. It was established that the development of *Nocardia* depends on the source of hydrocarbons and the pH of the medium. Intensive development for the untreated oil, *n*-alkanes and $C_{11}H_{24}$ was observed at the optimum pH in the range 4.5–7.7, 6.0–7.0 and 5.5–5.7, respectively. According to the results, the ratio of species of the genus *Nocardia* to the pH of the medium is a response to ecological and geographical conditions.

Key words: *Nocardia*, pH, *n*-alkane medium, biomass, lipids.

В настоящее время для биологической науки являются актуальными вопросы, связанные с проблемой регуляции процессов роста и биосинтеза биологически активных веществ с помощью фактора реакции среды (рН) [1, с. 72; 3; 8]. Многими исследователями выработаны современные представления о механизме биосинтеза нокардиоподобных микроорганизмов и их физиологической роли для собственных продуцентов [2; 5]. Как известно, изучение действия на начальный показатель рН среды считается важным и актуальным для оптимизации условий липидизации, а также окисления углеводородов нокардиями. С этой целью активные виды рода *Nocardia* как липидный продуцент, при разных значениях активной реакции среды (рН = 3,0-3,7-4,5-5,1-5,7-8,6) в стационарном положении, методами глубокого выращивания держались в термостате.

При значениях рН равных 3,0-3,7, в течение двух дней, развитие не так заметно. Только на 9-10-й день можно увидеть воздушный мицелий, похожий на сетку паука. При значениях рН

равных 4,5-8 тоже виден воздушный мицелий на 4-5-й день. Но при значениях рН равных 5,2-6,5 на 7-й день образуются воздушные и субстратные мицелии. По морфологически-культуральным признакам изучаемых видов рода *Nocardia* на третий день посева и развития на нейтральной среде появляется слабый воздушный мицелий, на 6-й день развивается субстратный мицелий. Воздушный мицелий видов рода *Nocardia* похож на сжатое тесто, из них в культурах *Nocardia citrea*, *N.flava*, *N.opaca*, *N.mycosym*, *N.rubra*, *N.amarae*, *N.oricalis* воздушный мицелий бывает темно-красного, белого, серого, темно-серого цвета. Но субстратный мицелий бывает темно-коричневого, белого, зеленоватого и черного цвета. При значениях рН равных 5,2-6,5 у видов рода *Nocardia* идет быстрая пигментация воздушного и субстратного мицелия. В связи с этим при развитии культур *Nocardia* значения реакции среды увеличиваются. На 10-й день ферментации самая высокая переменная рН выявляется при значениях рН=3,0-3,7. В использованных средах (Сабуро, сусло-агар) в начальных значениях рН изме-

нения бывают между 2,0 и 2,3. При значениях рН=4,5-5,2 среда нейтрализуется (7,0). При значениях рН=6,6-7,5 среда становится слабощелочной. Начальный показатель рН=0,3 увеличивается до единицы. При значениях рН=8,0 и 8,6 последний показатель рН слабо меняется до нейтрального [4; 6].

Действие начальной рН среды на выход биомассы изучаемых нами культур *Nocardia* исследовался выращиванием на питательной среде Чапек-Докса, в составе которого есть 2%-ные алканы, являющийся единственным источником углерода. Полученные за 10-дневный период ферментации результаты показаны в табл. 1. Опыты повторялись в одинаковых условиях в средах, имеющих в составе углерод, сырую нефть, керосин и N-алканы (C₁₁, H₂₄, C₁₂, H₂₆, C₁₅, H₃₂, C₁₆, H₃₄).

Итак, в результате исследований выяснилось, что развитие *Nocardia* зависит от источника углеводорода и рН среды. При наблюдении интенсивного развития, оптимальное значение рН для необработанной нефти было в интервале 4,5-7,7; для N-алканов – 6,0-7,0; для C₁₆H₃₄ – 5,5-7,5. Как видно из схемы

Таблица 1

Действие начальной рН углеродной и алканной среды на выход биомассы микроорганизмов рода *Nocardia*

| №№ | Виды рода <i>Nocardia</i> | начальная рН среды | | | | | | | | | |
|----|----------------------------|--------------------|-----|------|--------|------|--------|--------|--------|--------|-----|
| | | Дни | | | | | | | | | |
| | | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | X |
| 11 | <i>Nocardia citrea</i> | 3,0 | 3,7 | 4,5 | 5,27,0 | 5,7 | 6,57,2 | 7,07,3 | 7,57,5 | 8,08,0 | 8,6 |
| | | 0 | 0 | 5,5 | 9,6 | 7,1 | 8,1 | 6,5 | 3,6 | 3,6 | 8,0 |
| | | 1,4 | 2,2 | 3,0 | | 9,8 | | | | | 2,5 |
| 22 | <i>Nocardia flava</i> | 4,0 | 5,7 | 6,8 | 7,2 | 7,3 | 7,5 | 7,5 | 7,6 | 7,8 | 8,5 |
| | | 1,8 | 2,5 | 3,5 | 5,7 | 9,5 | 6,0 | 5,8 | 4,0 | 3,6 | 3,0 |
| 33 | <i>Nocardia opaca</i> | 5,6 | 5,7 | 7,0 | 7,2 | 7,3 | 7,5 | 7,5 | 7,8 | 7,8 | 8,2 |
| | | 2,3 | 4,8 | 6,8 | 7,0 | 12,0 | 13,0 | 10,5 | 9,2 | 8,0 | 4,0 |
| 44 | <i>Nocardia mycosym</i> | 6,6 | 6,7 | 7,3 | 7,3 | 7,4 | 7,5 | 7,6 | 7,7 | 7,5 | 8,4 |
| | | 2,0 | 4,1 | 6,2 | 11,8 | 12,3 | 12,8 | 9,0 | 7,0 | 4,5 | 3,7 |
| 55 | <i>Nocardia amarae</i> | 5,4 | 6,0 | 6,7 | 7,0 | 7,3 | 7,5 | 7,3 | 7,5 | 7,8 | 8,6 |
| | | 1,5 | 3,4 | 6,5 | 1,8 | 9,4 | 9,4 | 6,8 | 4,3 | 2,9 | 3,0 |
| 6 | <i>Nocardia rubra</i> | 5,2 | 5,7 | 7,0 | 7,2 | 7,3 | 7,5 | 7,2 | 7,6 | 7,8 | 8,5 |
| | | 4,7 | 2,0 | 10,8 | 11,2 | 10,4 | 10,4 | 7,0 | 5,0 | 3,1 | 2,5 |
| 7 | <i>Nocardia opichialis</i> | 5,0 | 6,0 | 7,0 | 7,2 | 7,2 | 7,3 | 7,5 | 7,8 | 8,0 | 8,2 |
| | | 32,0 | 4,3 | 6,5 | 11,2 | 11,2 | 11,1 | 9,5 | 6,5 | 4,4 | 4,0 |

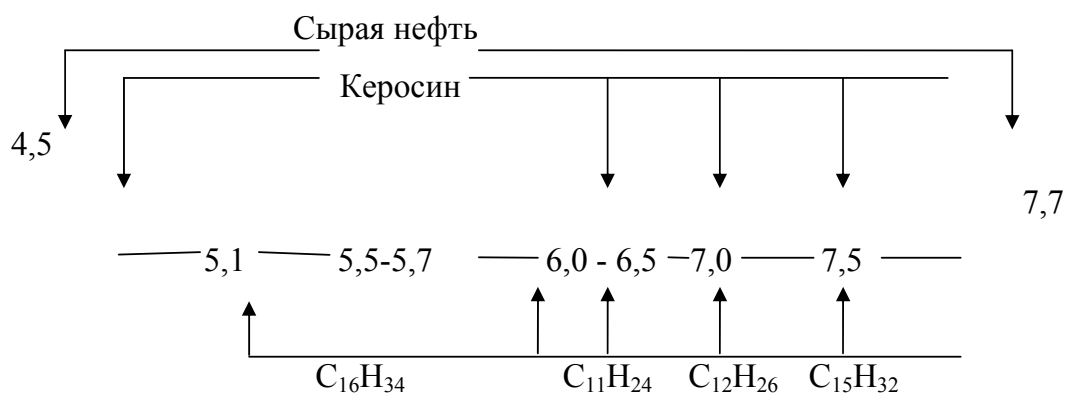


Рис. 1. Интервалы усвоения рН

(рис. 1), у N-алканов $C_{11}H_{24}$, где углеводородная цепь немного длиннее, эти значения доходят до 5,5-5,7. Линия усвоения рН сырой нефти более широкая 4,5-7,7; предел усвоения керосина находится между N-алканами и сырой нефтью в среднем положении, т.е. 5,1-6,5.

В результате проведенных опытов было выяснено, что с точки зрения выхода биомассы среди микроорганизмов рода *Nocardia* наблюдались более легкие и подходящие *N.rubra*, *N.amarae*, *N.mycosum* (последний показатель рН, биомасса г/л) при неоптимальных значениях начальной рН. Очень интересно, что выход биомассы сохраняется при значениях рН-3,0; 3,7; 8,0; 8,6. Действие высоких начальных значений рН среды на развитие культур *Nocardia* проявляется в низком накоплении биомассы. Для липидных образований в 2%-ном n-алканном, керосиновых, необработанных нефтяных средах оптимальных нефтяных средах оптимальный рН имеет одинаковые значения, т. е. 6,0-6,5. Но при значениях рН-3,7; 4,5; 8,0; 8,6 сухая биомасса в среднем доходит до 0,8-7,5. При значениях рН равных 7,0-7,5 количество накопленных липидов меньше, чем при значениях рН-5,1-6,5 [7]. Выясняется, что это соответствие у различных проактиномицетов рода *Nocardia* связано с наличием у них одинаковых ферментных связок, требующих для аналогичных условий. Активность таких ферментов была пропорциональна скорости липидных обменов.

По стойкости к кислотам выявляется доминирование нокардий в кислых и загрязненных нефтью почвах или увеличение в кислых средах, а иногда уменьшение в малых количествах. Но не всегда это ожидание может оправдаться. Если актиномицеты рода *Nocardia* развиваются в широком интервале рН, то максимальная точка рН падает до нейтрального значения, а минимальная – на зону 3,5. При более высоких значениях рН, чем нейтральные, количественное преимущество и антагонистическое действие для актиномицетов *Nocardia* бывает сильнее, чем реакция почвы. Поэтому наименьшее количество микроорганизмов рода *Nocardia* в щелочных, нейтральных почвах больше зависит от последовательности смены значений рН. По нашим исследованиям, отношение к рН среды микроорганизмов рода *Nocardia* оценивается как ответ на географические условия их экологии. Для накапливания биомассы при выращивании в углеводородных средах выбранных культур *Nocardia*, для биосинтеза липидов в максимальном количестве, а также для усвоения углеродных источников значение рН=6,5-7,7 следует считать оптимальным.

Выводы

1. При нормальных оптимальных значениях начальных показателей рН, среди видов рода *Nocardia*, по выходу биомассы хорошо

соответствовали *Nocardia rubra*, *N.amarae*, *N.mycosum*.

2. В начальных значениях рН среды действие на развитие доминантных видов проявляется себя в низких накоплениях.

3. Активность ферментов пропорциональна скорости липидных обменных процессов.

4. Отношение видов рода *Nocardia* к значениям рН среды является ответом на эколого-географические условия.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Захарова И.Я., Павлова А.Н. Литические ферменты микроорганизмов. – Киев: Наукова думка, 1985. – 215 с.
2. Золотухин С.Н. Изменение литической активности морганеллезного бактериофага при хранении // Проблемы инфекционных и инвазионных болезней в животноводстве на современном этапе: материалы международной конференции (тез. докладов). – М.: МГАВМиБ им. Скрыбина К.И., 1999. – С. 80.
3. Кудухашвили П.Г. Изучение литической активности актиномицетов, выделенных из почв Грузии / П.Г. Кудухашвили, М.А. Гуриеладзе, Д.Т. Патарая // Прикладная биохимия и микробиология. – 2001. – № 3 (37). – С. 251.
4. Кузнецов В.Д. Состав жирных кислот липидов стрептомицетов и их нокардиоподобных вариантов / В.Д. Кузнецов, Т.П. Ефимов, В.А. Цыганов // Микробиология. – Т. 49, № 5. – 1980. – С. 751-755.
5. Коронелли Т.В. Липиды сапрофитных микобактерий: Автореф. дисс... д-ра биол. наук. – М., 1980. – 46 с.
6. Набатова М.Н. Эффективность использования литического фермента препарата лизорецифина в рационах репродуктивных самок норок // Тезисы докл. III между. конф. «Актуальные проблемы биологии в животноводстве». – Боровск, 2000. – С. 174-176.
7. Расулзаде З.Д. Изучение ферментативной активности как показателя микробиологического статуса прибрежных почв Апшеронского полуострова при нефтяном загрязнении // Труды Института микробиологии НАНА. Т. 3. – Баку: «Элм», 2006. – С. 217-224.
8. Фархрудинов А.И. Результаты рекультивации нефтезагрязненных территорий с применением бактериального препарата / А.И. Фархрудинов, В.Г. Алехин, Л.А. Малышкина // Наука и образование XXI века: сборник тезисов. Ч. 1. – Сургут, 2001. – С. 55-56.