

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА РОСТ МИКРОМИЦЕТОВ, АССИМИЛИРУЮЩИХ НАФТАЛАНОВУЮ НЕФТЬ*

Аннотация. Изучено влияние pH, а также таких компонентов питательной среды, как источник азота, органических добавок (сахарозы и дрожжевого экстракта), влияющих на рост и деградацию нафталановой нефти активными штаммами микромицетов. Лучшим источником минерального азота был NaNO_3 , а из органических источников азота – пептон. Из органических добавок концентрация сахарозы 0,05% обеспечивает максимальный рост изученных штаммов микромицетов. Подобраны оптимальные значения начальных pH среды для каждого из штаммов. Показана способность данных штаммов к росту на фракциях из нафталановой нефти.

Ключевые слова: нафталановая нефть, микромицеты, ассимиляция, штаммы.

S. Kasimova, P. Muradov

EFFECT OF NUTRIENT MEDIUM ON THE GROWTH OF FUNGI, ASSIMILATING NAPHTHALAN OIL

Abstract. The effect of pH, as well as those components of the nutrient medium as a source of nitrogen, organic additives (sucrose and yeast extract), affecting the growth and degradation of oil naphthalan active fungal strains. The best source of mineral nitrogen was NaNO_3 , and from organic sources of nitrogen - peptone. Of the organic additives concentration of sucrose 0.05% for maximum growth of the studied fungal strains. The optimal value of initial pH for each of the strains. It is shown that the ability of these strains to grow at a fraction of naphthalan oil.

Key words: naphthalan oil, assimilation, micromycetes.

Культивирование мицелиальных грибов, как и других микроорганизмов, на углеводородах нефти обуславливает создание среды, оптимально отвечающей потребностям клетки и обеспечивающей синтез новых [1].

При изучении влияния состава питательной среды на рост мицелиальных грибов на углеводородах многие авторы отмечают важную роль различных форм азота в среде [2, 3, 4]. При постановке опытов с азотным питанием мы использовали следующие минеральные соли: NH_4Cl , NH_4NO_3 , NaNO_3 . Соли вносились в питательную среду в концентрациях 0,03%, 0,06%, 0,12%, 0,24% по азоту. Питательной средой для данных опытов служила среда Чапека с 2% нафталановой нефтью в качестве единственного источника углерода. Опыты проводились с *Fusarium* sp. 11a, *Cephalosporium* sp. 45 a, *Penicillium* sp 3 п, *Mucor* sp 6 н. Полученные данные приведены в табл. №1. Как видно из таблицы №1, исследованные штаммы хуже росли при внесении в среду NH_4Cl .

Использование различных форм азота грибными штаммами при росте на нафталановой нефти

Источник азота	Конц., %	pH _{кон}	Биомасса, г/л	pH _{кон}	Биомасса, г/л
NH ₄ Cl		Fusarium sp. 11a		Cephalosporium sp. 45a	
	0,03	6,3	0,100	6,55	0,033
	0,06	6,1	0,128	6,35	0,090
	0,12	6,45	0,317	6,6	0,258
	0,24	5,9	0,063	6,1	0,069
		Penicillium sp. 3п		Mucor sp. 6н	
	0,03	6,4	1,522	6,35	0,210
	0,06	6,2	1,374	6,5	0,174
	0,12	6,3	0,618	6,35	0,190
0,24	6,0	0,415	6,1	0,435	
NH ₄ NO ₃		Fusarium sp. 11a		Cephalosporium sp. 45a	
	0,03	6,35	0,087	6,0	0,196
	0,06	6,3	0,089	6,3	0,119
	0,12	6,3	0,359	6,7	0,521
	0,24	5,8	0,100	6,1	0,090
		Penicillium sp. 3п		Mucor sp. 6н	
	0,03	6,2	1,061	6,4	0,108
	0,06	6,3	1,923	6,1	0,173
	0,12	6,45	1,328	6,3	0,631
0,24	5,8	1,154	6,6	0,231	
NaNO ₃		Fusarium sp. 11a		Cephalosporium sp. 45a	
	0,03	6,9	0,071	7,4	0,279
	0,06	7,0	0,112	7,4	0,105
	0,12	7,1	0,209	7,6	0,246
	0,24	6,8	1,417	7,1	0,615
		Penicillium sp. 3п		Mucor sp. 6н	
	0,03	6,8	1,082	6,9	1,120
	0,06	7,0	2,134	6,7	1,253
	0,12	7,1	1,872	6,8	2,576
0,24	6,9	1,650	7,0	1,876	

Все 4 штамма лучше усваивали нитратный азот, чем аммонийный. Максимальное количество биомассы изученные штаммы продуцировали в присутствии NaNO₃. Оптимальная концентрация NaNO₃ в среде для Fusarium sp. 11a и Cephalosporium sp. 45a – 0,24% по азоту, для Penicillium sp. 3п – 0,06%, для Mucor sp. 6 н – 0,12%. При исходном значении pH среды 6,9 – 7,0 конечные значения pH среды менялись в зависимости от внесения в среду различных солей азота. Так, при росте на среде с NaNO₃ конечные pH были в пределах 6,8 - 7,4; с NH₄Cl и NH₄NO₃ 6,1- 6,6.

В качестве органических источников азота было испытано влияние мочевины и пептона на рост грибных штаммов, которые вносились в среду в количестве 0,5%. Полученные данные представлены в табл. №2. Как видно из табл. №2, мочевина оказывает угнетающее воздействие на рост штаммов, в то время как внесение 0,5% пептона оказывало положительное влияние на продукцию мицелия исследуемых штаммов.

Рост грибных штаммов на нафталановой нефти
в присутствии органических форм азота.

Источник азота	pH _{нач}	pH _{кон}	Биомасса, г/л	pH _{нач}	pH _{кон}	Биомасса, г/л
Мочевина 0,5%	Fusarium sp. 11a			Cephalosporium sp. 45a		
	6,2	8,1	0,197	6,2	8,4	0,205
Пептон 0,5%	-	7,8	4,986	-	8,0	0,387
Контроль	-	7,6	0,236	-	7,3	0,231
Мочевина 0,5%	Penicillium sp. 3п			Mucor sp. 6н		
	6,2	8,0	1,752	6,2	8,3	1,823
Пептон 0,5%	-	7,6	2,625	-	8,1	2,951
Контроль	-	7,9	1,956	-	7,8	2,123

Известно, что хотя микроорганизмы, окисляющие углеводороды, и не требуют для своего развития факторов роста в среде, следы их ускоряют рост культуры. Рядом исследователей было отмечено стимулирующее действие органических добавок на рост микроорганизмов на углеводородах [1]. Нами в качестве органических добавок использовались сахароза в концентрации 0,5% и дрожжевой экстракт в концентрации 0,5%, 1%, 2%. Грибы выращивались в жидкой минеральной среде Чапека с 1% нафталановой нефтью и добавлением соответственно сахарозы и дрожжевого экстракта. Сроки культивирования – 10 и 20 суток. Как показали результаты опытов, внесение органических добавок, как дрожжевого экстракта, так и сахарозы, значительно стимулировало рост штаммов грибов по сравнению с контролем; максимальная продукция биомасса мицелия отмечена при внесении 0,5% сахарозы.

В литературе имеются данные о бактерицидном действии фракций, полученных из нафталановой нефти, на микроорганизмы [5]. В связи с этим мы проводили изучение возможности роста исследуемых штаммов грибов на ряде фракций из нафталановой нефти. С этой целью штаммы грибов выращивались на среде Чапека с 0,5% четырех различных фракций – №2, №3, №4, №5, полученных из нафталановой нефти, в качестве единственного источника углерода. Как видно из табл. №3, штаммы грибов лучше развиваются при внесении в среду фракций №4 и №5, рост на фракциях №2 и №3 был ниже контроля.

Рост грибных штаммов на фракциях нафталановой нефти

Fusarium sp. 11a				Cephalosporium sp. 45a		
Фракции	pH _{нач}	pH _{кон}	Биомасса, г/л	pH _{нач}	pH _{кон}	Биомасса, г/л
№2	6,2	7,7	0,190	6,2	7,8	0,170
№3	-	7,7	0,220	-	8,0	0,200
№4	-	7,8	0,320	-	7,9	0,290
№5	-	7,8	0,457	-	7,9	0,330
Контроль	-	8,0	0,275	-	8,1	0,290
Penicillium sp. 3 п				Mucor sp. 6 н		
№2	6,2	7,8	0,186	6,2	7,7	0,178
№3	-	7,8	0,210	-	7,8	0,196
№4	-	7,9	0,295	-	7,9	0,307
№5	-	7,7	0,415	-	8,0	0,398
Контроль	-	8,0	0,263	-	8,1	0,284

Нами также проводилось изучение способности роста исследуемых штаммов на нафталановой нефти, гексадекане, дизельном топливе с различной концентрацией в среде. Для этого грибы выращивали на среде Чапека при 260- 280С в стационарных условиях. Углеводородные субстраты, в качестве единственного источника углерода, добавлялись в концентрациях: 0,5%, 1%, 2%, 3%. Опыт учитывался на 20-е сутки стационарного культивирования. Как видно из таблицы № 4, повышение концентрации испытанных углеводородных субстратов в питательной среде от 0,5 до 1% приводило к увеличению

Таблица № 4

Влияние углеводородного субстрата в среде на рост грибных штаммов

Название штамма	Источник углеводорода в среде, %											
	Нафталановая нефть				Гексадекан				Дизельное топливо			
	0,5	1	2	3	0,5	1	2	3	0,5	1	2	3
Cephalosporium sp. 45a	0,297	0,396	0,651	0,581	0,320	0,401	1,582	1,210	0,271	0,592	0,611	0,405
Fusarium sp. 11a	1,402	1,263	0,756	0,568	1,210	1,502	1,731	1,452	1,106	1,212	1,034	0,811
Penicillium sp. 3п	1,814	1,950	2,205	1,813	2,054	2,120	2,743	2,706	1,658	2,107	1,951	1,715
Mucor sp. 6н	1,912	2,015	2,613	2,117	2,203	2,416	3,013	2,901	1,716	2,051	2,509	2,134

продукции биомассы исследованных штаммов грибов, причем концентрация 2% в среде нафталановой нефти является оптимальной для 3-х штаммов, за исключением штамма *Fusarium* sp. 11a, для которого наилучшей концентрацией нафталановой нефти в среде является 0,5%.

Максимальный выход биомассы отмечен у всех штаммов грибов и на гексадекане, а минимальный – на дизельном топливе. Повышение же концентрации всех 3-х углеводородных субстратов до 3% приводит к уменьшению выхода биомассы у всех испытанных штаммов.

Культивирование мицелиальных грибов на средах с углеводородами проводят при меняющихся или постоянных значениях pH. Как отмечают многие авторы, у мицелиальных грибов отмечена тенденция подщелачивать среду при кислых исходных значениях pH и подкислять при щелочных значениях. Однако, хотя испытанные виды пенициллиев и аспергиллов в процессе роста при разных исходных концентрациях водородных ионов в среде в значительной мере выравнивали кислотность среды, начальная кислотность влияла на накопление биомассы [1, 3, 6].

Исследование роста активных штаммов проводилось нами на питательной среде Чапека с нафталановой нефтью в качестве единственного источника углеводорода. Значения концентраций pH составляли: 2,3; 3,1; 4,2; 5,2; 6,2; 7,2; 8,0; 9,0. Испытанные штаммы были способны расти в широком диапазоне начального значения pH – от 2,3 – 8,0. Оптимальным значением pH для двух штаммов *Cephalosporium* sp. 45a и *Mucor* sp. 6n является 7,2, а для штаммов *Fusarium* sp. 11a и *Penicillium* sp. 3п – 6,2. Однако у всех испытанных нами штаммов грибов повышение pH до 9,0 вызывает угнетение их роста.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Билай В.И., Коваль Э.З. Рост грибов на углеводородах нефти. Киев: «Наукова Думка», 1980.
2. Коваль Э.З. Основные особенности и закономерности роста мицелиальных грибов на разных углеводородах нефти // Тез. докл. 4 Закавказ. совещ. по споровым растениям. Ереван. 1972.
3. Зайченко А.М. Изучение окисления алканов некоторыми микромицетами: Автореф. дис. канд. биол. наук. Киев, 1967.
4. Сокольский А.Ф., Умербаева Р.И. Микробиологические исследования в Северном Каспии // Касп. НИИ рыб. х-ва. Астрахань, 2000. С. 75-79.
5. Аббасов В.М., Исаева Г.А., Ибрагимов Г.А. и др. Фунгицидная активность нафтеновых углеводородов лечебной нафталанской нефти и ряда индивидуальных синтетических нафтенов// Процессы нефтехимии и нефтепереработки. 2002. 1(8). С.11
6. Пидопличко Н.М., Бухало А.С. Пархоменко Л.П. Влияние условий культивирования на рост некоторых видов рода *Penicillium* на углеводородах// Микология и фитопатология. 1969.3.3. С.213-218.