

МИКРООРГАНИЗМЫ, СОПУТСТВУЮЩИЕ *SPIRULINA PLATENSIS* В НАКОПИТЕЛЬНОЙ КУЛЬТУРЕ

Представлены данные о количественном и качественном составе сопутствующей микрофлоры в накопительной культуре *Spirulina platensis*. Показано, что определение численности отдельных физиологических групп бактерий, а также их родовой принадлежности позволяет судить о состоянии *S. platensis* в культуре в момент отбора проб.

В природе и в лабораторных условиях рост микроводорослей сопровождается развитием микроорганизмов.

Известно, что наряду с ростом микроводорослей идет и отмирание их клеток, что особенно заметно в замкнутых емкостях, где нет водообмена. В этом случае микроорганизмам, сопутствующим микроводорослям, принадлежит огромная роль. С одной стороны, они выполняют роль санитаров, очищая среду в культиваторах от загнивания. С другой стороны, микроорганизмы, имея мощную ферментативную систему, минерализуют органические вещества, обеспечивая тем самым поступление в среду дополнительных источников питания в виде биогенов, аминокислот, полисахаридов и других простых соединений, которые в дальнейшем используют для своего роста микроводоросли.

Основными компонентами органики, которые высвобождаются при отмирании микроводорослей, являются белки, липиды и углеводы.

Авторы [6] отмечают, что культивирование водорослей обуславливает необходимость исследования качественного и количественного состава микроорганизмов альгобактериального сообщества.

Цель данной работы – изучение количественного и качественного состава микроорганизмов, минерализующих белки, липиды, углеводы в культуре.

Материал и методы. Объектом исследования была альгологически чистая культура *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler (Cyanophyta), полученная при реактивации БАД различных производителей: Крым (1), Россия (2), Украина (3), Япония (4). Питательной средой служила среда Громова [2]. *S. platensis* выращивали в накопительной культуре, в культиваторах открытого типа при освещенности 750 Вт и температуре 22 – 25°C. Перемешивание осуществляли с помощью аквариумных насосов. Для количественного исследования трех физиологических групп бактерий из четырех культиваторов одновременно были отобраны пробы с культуральной жидкостью. Последние пропускали через фильтр для освобождения от клеток *S. platensis*. Пробы отбирали после достижения водорослями стационарной фазы роста.

Численность протеолитических, аминолитических, липолитических групп микроорганизмов определяли на специальных средах методом предельных разведений, каждое разведение высевали в три параллельные пробирки (3 повторности) [1, 7]. Посевы инкубировали в термостате при 27°C в течение 10 дней. Число клеток в 1 мл культуральной среды устанавливали с помощью таблицы Мак-Креди [1].

Бактерии – спутники выделяли в чистую культуру на мясо-пептонном агаре. Определение до рода проводили по определителю Берджи [4].

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования показали (табл. 1), что в культиваторе № 1 отмечена высокая численность микроорганизмов, трансформирующих белковоподобные соединения – $9,5 \cdot 10^4$ кл./мл; число клеток аминолитических и липо-

литических бактерий было на 2 порядка ниже протеолитических и составило соответственно $4,5 \cdot 10^2$ кл./мл.

Максимум численности протеолитических бактерий отмечен в культиваторе № 2; количество клеток в 1 мл культуральной среды равнялось $1,5 \cdot 10^6$ кл./мл. Число клеток, трансформирующих углеводоподобные соединения и липиды, было на 3 порядка ниже прототрофов и составило соответственно $2,5 \cdot 10^2$ и $9,5 \cdot 10^2$ кл./мл.

Обращает внимание довольно близкие показатели трех физиологических групп в 3 и 4-м культиваторах, где количество клеток в 1 мл незначительно отличалось друг от друга и колебалось в пределах от $1,5 \cdot 10^4$ до $9,5 \cdot 10^4$ кл./мл. Следует отметить тот факт, что численность амилаолитических микроорганизмов была даже немного выше прототрофов.

Таблица 1. Численность различных физиологических групп бактерий в культуре
Table 1. The abundance of different physiological groups of bacteria in culture

№№ культиваторов	Микроорганизмы, кл./мл		
	протеолитические	амилолитические	липолитические
1	$9,5 \cdot 10^4$	$4,5 \cdot 10^2$	$7,5 \cdot 10^2$
2	$1,5 \cdot 10^6$	$2,5 \cdot 10^2$	$9,5 \cdot 10^2$
3	$7,5 \cdot 10^4$	$4,5 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^4$
4	$4,5 \cdot 10^4$	$9,5 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^4$

Это, по-видимому, следует объяснить тем, что среди органических соединений, присутствующих в культиваторе № 4, углеводы преобладали, и микроорганизмы обладали высокой способностью к биотрансформации их соединений.

Количество микроорганизмов, трансформирующих липиды в 3 и 4-м культиваторах, было выше, чем в 1 и во 2-м, что указывает на присутствие органических соединений липидного комплекса.

По приведенным выше данным о количественном составе протеолитических, амилаолитических и липолитических бактерий можно судить о состоянии культуры микроводорослей в культиваторах. Так, высокая численность бактерий-прототрофов в 1 и 2-м культиваторах, по-видимому, свидетельствует о старении культуры микроводорослей и отмирании клеток, что и сопровождается быстрым ростом бактерий, трансформирующих белковоподобные соединения. Литературные данные свидетельствуют о том, что интенсивность деградации белков определяется также биохимической активностью бактерий, содержащих протеолитические ферменты. Как правило, высокая численность бактерий сопровождается низкими показателями биомассы водорослей, а чем ниже численность прототрофов, тем выше биомасса водорослей [5].

Данные анализа показывают увеличение количественного содержания липолитических и уменьшение протеолитических микроорганизмов в 3 и 4-м культиваторах, что, вероятно, следует объяснить присутствием в последних веществ липидной природы. А вещества липидной природы образуются в клетках и выделяются в среду в процессе жизнедеятельности микроводорослей и обладают антибактериальной активностью [3], что, возможно, и повлияло на уменьшение прототрофов.

Одновременно проводимые исследования по качественному составу микроорганизмов во всех культиваторах свидетельствуют о доминировании четырех родов-спутников *S. platensis*: *Flavobacterium*, *Mycobacterium*, *Achromobacter* и *Pseudomonas*. В культиваторе № 1 обнаружены бактерии рода *Bacillus* и *Caulobacter*, в культиваторе № 2 - бактерии рода *Corynebacterium* (табл. 2).

Наличие граммотрицательных палочковидных бактерий, относящихся к родам *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, в первом аквариуме повлияло, по-видимому, и на увеличение численности протеолитических микроорганизмов. Исследованиями ряда

авторов [6], установлено, что антибактериальные вещества, выделяющиеся водорослями в процессе их жизнедеятельности проявляют свою активность (прежде всего) в отношении грамположительных бактерий, реже – грамотрицательных.

Таблица 2. Качественный состав бактерий-спутников *Spirulina platensis*
Table 2. The qualitative composition of bacteria associated with *Spirulina platensis*

№№ культивато- ра	1	2	3	4
Название рода	<i>Flavobacterium</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Caulo- bacter</i>	<i>Flavobacterium</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Corynebacterium</i>	<i>Flavobacterium</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Pseudomonas</i>	<i>Flavobacterium</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Pseudomonas</i>

Определение родовой принадлежности сопутствующей микрофлоры дает представление о бактериальной составляющей альгобактериальных комплексов в культуре. Согласно данным литературы [8] микроорганизмы родов *Pseudomonas* и *Caulobacter* стимулируют рост микроводорослей.

Выводы. Исследования количественных показателей бактерий-спутников, а также их родовой принадлежности позволяет судить о состоянии *Spirulina platensis* в культуре в момент отбора проб.

Полученные данные о количественном и качественном составе сопутствующей микрофлоры в культуре имеют важное практическое значение, так как свидетельствуют о приуроченности бактерий-спутников к определенным продуктам метаболизма.

1. Аникеев В. В., Лукомская К. А. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. – М.: Просвещение, 1977. – 128 с.
2. Водоросли // Справочник. К.: «Наукова Думка». – К. – 1989. – 604 с.
3. Кондратьева Е. М. Исследование микрофлоры, сопутствующей одноклеточным водорослям в биологической системе обеспечения человека: автореф. дисс. канд.биол.наук. - М., 1980. - 24 с.
4. Краткий определитель бактерий Берги / Под ред. Дж. Хоулта. «Мир». – М. – 1980. – 495 с.
5. Кузьменко М. И., Рябов А. К. Влияние водорослей на бактериальную деструкцию белков в природных водах // Гидробиол. журн. – 1980. – 16. - № 2. – С. 72 – 76.
6. Ленова Л. И., Борисова Е. В. Бактерии, сопутствующие некоторым галофильным одноклеточным водорослям // Микробиол. журн. – 1983. – 45. – Вып. 4. – С. 39 – 44.
7. Тархова Э. П., Копытов Ю. П. Сезонная динамика численности и деструкционной активности бактериопланктона Севастопольской бухты // Экология моря. – 1990. – Вып. 35. – С. 14 – 17.
8. Mouget J. L., Dakhama A., Lavoie M. C., De-la-Noue J. Algal growth enhancement by bacteria: is consumption of photosynthetic oxygen involved ? // Fems Microbiol. Ecol. – 1995. – 18. - No 1. – P. 35 – 44.

Институт биологии южных морей НАНУ,
г. Севастополь

Получено 07.10.2005

**MICROORGANISMS ASSOCIATED WITH *SPIRULINA PLATENSIS* (NORDST.)
IN ACCUMULATED CULTURE**

Summary

The data of quantitative and qualitative composition of associated microflora in accumulated culture of *Spirulina platensis* are presented. It was showed that determination of quantity of some physiological groups of bacteria and its genus belonging can be used for description of *Spirulina platensis* state in culture at the moment of sample.