

ИССЛЕДОВАНИЕ РОСТОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ДРОЖЖЕВЫХ КУЛЬТУР ПЕРИФИТОНА СИСТЕМ ГИДРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ МОРСКИХ ВОД

Изучены некоторые ростовые характеристики морских бактерий и дрожжей, выделенных из перифитона систем гидробиологической очистки морских вод. Установлено, что дрожжи активно растут при наличии глюкозы и источника азота. Существенных различий между ростом бактерий и дрожжей на пептоне не обнаружено. Определено, что прирост биомассы у дрожжей, в отличие от бактерий, с течением времени возрастает.

Метод предельных разведений широко применяется в микробиологической практике, однако он позволяет оценить лишь численность микроорганизмов, но не даёт представления о процессе роста культур [4]. Вместе с тем, для выявления роли микроорганизмов (бактерий и дрожжей) в процессах самоочищения и трансформации загрязняющих веществ необходимо иметь представление о скорости и характере роста. Автоматический анализатор «Биоскрин-С» позволяет более детально изучать особенности физиологии микроорганизмов, в частности, характер роста культур определённых групп микроорганизмов.

Цель работы – исследование ростовых характеристик морских бактерий и дрожжей, выделенных из перифитона систем гидробиологической очистки морских вод, с помощью автоматического анализатора «Биоскрин-С».

Материал и методы. Для работы использовали чистые суточные культуры бактерий (*Vibrio*, *Marinococcus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*) на пептонной воде и трёхсуточные культуры дрожжей (*Candida* sp.) на солодово-дрожжевом бульоне (СДБ) [2, 4].

Для исследования процесса роста бактерий и дрожжей, выделенных из перифитона систем гидробиологической очистки (СГО–1, СГО–2) [1, 3], использован автоматический анализатор «Биоскрин-С» с программой BIORTN. Из пробирки капилляром закапывали пересеянную культуру в ячейки плашки в пяти повторях, причём объём каждой ячейки составлял 0,02 мл.

Для всех бактериальных и дрожжевых культур определяли следующие параметры: относительная максимальная биомасса (плотность) культуры ($V_{\text{max. отн.}}$, %); относительный прирост биомассы ($\Delta V_{\text{max. отн.}}$, %); средняя скорость прироста биомассы ($V_{\text{ср}} = \Delta V_{\text{max. отн.}} / \Delta t$).

Проведено 3 серии экспериментов:

Серия № 1. Бактерии, выделенные из СГО–1 и СГО–2 (нумерация культур дается по [1, 3]):

- № 72 (*Vibrio*) смыв с СГО–1;
- № 78 (*Marinococcus*) перифитон СГО–1;
- № 83 (*Micrococcus*) смыв с СГО–2;
- № 84 (*Vibrio*) из того же источника, что и № 83;
- № 87 (*Pseudomonas*) перифитон СГО–2.

Длительность эксперимента составляла 150 ч, данные абсорбции снимали каждые 50 ч.

Серия № 2. Для изучения роста дрожжевых культур использовали СДБ следующего состава: дрожжевой экстракт – 3 мл, солодовое сусло – 3 мл, пептон – 5 г, глюкоза – 10 г, приготовленный на морской воде.

В следующем эксперименте участвовало 5 культур дрожжей, отнесенных к роду *Candida* sp., выделенных из перифитона СГО–1: №№ 115 – 119.

Длительность эксперимента составляла 150 ч, данные абсорбции снимали каждые 50 ч.

Серия № 3. В эксперименте участвовало 4 культуры, в том числе, две бактериальные и две дрожжевые:

- № 101 (*Vibrio*) смыв с СГО–2;
- № 104 (*Vibrio*) из того же источника, что и № 101;
- № 1 (*Candida* sp.) перифитон СГО–2;
- № 5 (*Candida* sp.) из того же источника, что и № 1.

Длительность эксперимента составляла 75 ч, данные абсорбции снимали через 50 и 75 ч. Культуры бактерий росли только на пептоне, а дрожжи, как на пептоне, так и на СДБ.

Результаты и обсуждение. Серия № 1. Относительная максимальная биомасса (плотность) отмечена через 100 ч у культуры, принадлежащей к роду *Vibrio* (№ 84), и была принята за 100 %. В первые 50 ч эксперимента максимальная биомасса также наблюдалась для рода *Vibrio* (№ 72) и составляла 79,4 %, а минимальная – для *Pseudomonas* (№ 87). Через 150 ч эксперимента максимальная биомасса была у представителей рода *Vibrio* – 91,4 и 85,9 % соответственно для культур № 84 и 72. Следует отметить, что для рода *Pseudomonas* выявлена тенденция к увеличению биомассы со временем, в отличие от других культур, где после 150 ч культивирования наблюдали замедление роста (рис. 1).

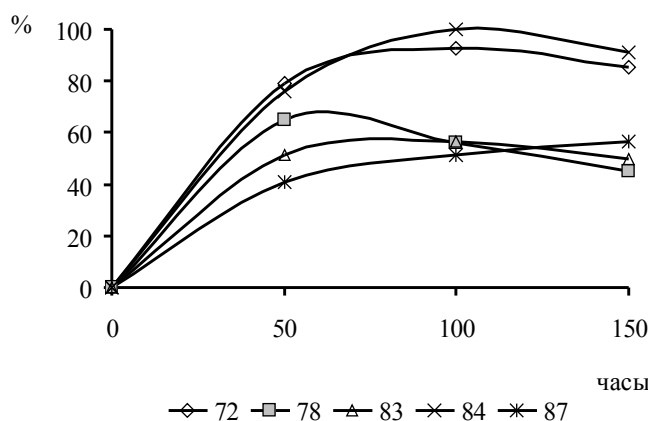


Рисунок 1. Рост относительной биомассы бактерий в эксперименте
Figure 1. Growth of relative biomass of bacteria in experiment

Относительный прирост биомассы бактерий для *Vibrio* (№ 72) незначительно колебался в

пределах от 65,5 до 68,9 % в течение всего эксперимента (табл. 1).

Таблица 1. Ростовые характеристики бактерий в эксперименте
Table 1. Growth characteristics of bacteria in experiment

Культура	Относительный прирост биомассы, $\Delta B_{\text{max. отн.}}, \%$			Средняя скорость прироста, $V_{\text{ср. отн.}} = \Delta B_{\text{max. отн.}} / \Delta t$		
	через 50 ч	через 100 ч	через 150 ч	через 50 ч	через 100 ч	через 150 ч
№ 72 (<i>Vibrio</i>)	65,5	68,9	67,3	1,31	0,69	0,45
№ 78 (<i>Marinococcus</i>)	60,1	56,3	51,9	1,20	0,56	0,35
№ 83 (<i>Micrococcus</i>)	55,9	58,3	55,5	1,12	0,58	0,37
№ 84 (<i>Vibrio</i>)	64,2	70,5	68,6	1,28	0,71	0,46
№ 87 (<i>Pseudomonas</i>)	49,1	55,4	57,7	0,98	0,55	0,38

Для рода *Marinococcus* (№ 78) максимум прироста отмечен через первые 50 ч (60,1 %), затем это значение постепенно снижалось до 51,9 % к концу эксперимента. Прирост биомассы для *Pseudomonas* (№ 87) возрастал от 49,1 до 57,7 %.

Средняя скорость прироста биомассы для всех культур была максимальной через 50 ч эксперимента (0,98 – 1,31 %/ч), затем она постепенно снижалась (0,35 – 0,46 %/ч).

Серия № 2. Относительная биомасса дрожжевых культур значительно отличалась от биомассы бактериальных. Для всех культур с течением времени она равномерно возрастала и колебалась в пределах 10 – 15 % (рис. 2).

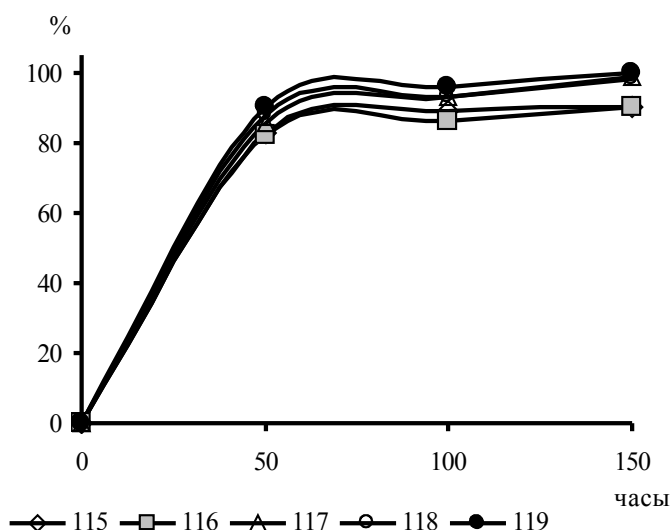


Рисунок 2. Рост относительной биомассы дрожжей в эксперименте
Figure 2. Growth of relative biomass of yeasts in experiment

Рост биомассы для всех культур дрожжей продолжался все 150 ч эксперимента, в то время как у бактерий рода *Marinococcus* прирост биомассы уже после 100 ч эксперимента снизился на 4 %.

Относительные величины прироста биомассы составили 80,8 – 87,5 %. Средняя скорость прироста биомассы за первые 50 ч составила 1,62 – 1,72 %/ч, за 100 ч – 0,82 – 0,87 %/ч, а за 150 ч – 0,55 – 0,58 %/ч (табл. 2).

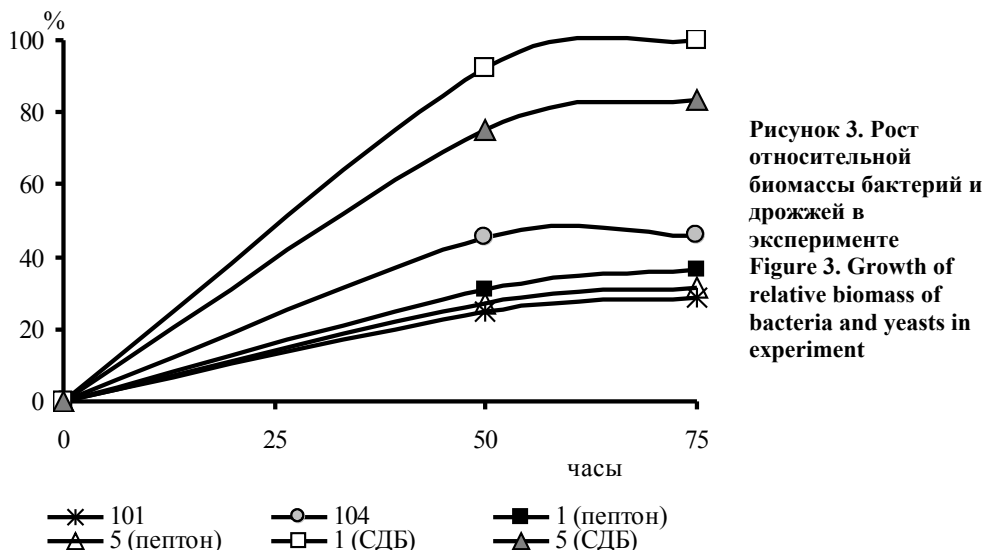
Таблица 2. Ростовые характеристики дрожжей в эксперименте
Table 2. Growth characteristics of yeasts in experiment

Культура	Относительный прирост биомассы, $\Delta B_{\text{мах. отн.}}, \%$			Средняя скорость прироста, $V_{\text{ср. отн.}} = \Delta B_{\text{мах. отн.}} / \Delta t$		
	через 50 ч	через 100 ч	через 150 ч	через 50 ч	через 100 ч	через 150 ч
115 (<i>Candida</i>)	83,0	84,1	84,3	1,66	0,84	0,56
116 (<i>Candida</i>)	80,8	81,5	82,2	1,62	0,82	0,55
117 (<i>Candida</i>)	85,9	86,9	87,5	1,72	0,87	0,58
118 (<i>Candida</i>)	84,9	85,6	86,2	1,70	0,86	0,57
119 (<i>Candida</i>)	85,0	85,8	86,3	1,70	0,86	0,58

Биомассы всех культур, задействованных в эксперименте, незначительно отличались друг от друга.

Серия № 3. Питание микроорганизмов в естественных условиях происходит за счёт растворённой органики, а выделение бактериальных и дрожжевых культур в эксперименте производится на специфических средах. В этой связи был проверен рост выделенных бактериальных и дрожжевых культур на пептоне и СДБ – селективной среде для дрожжей, причём культуры бактерий росли только на пептоне, а дрожжи – как на пептоне, так и на СДБ.

Интенсивность роста дрожжей на СДБ была в 2-3 раза выше, чем на пептоне (рис. 3).



Относительный прирост биомассы, как бактерий, так и дрожжей, на пептоне незначительно отличался, а прирост биомассы дрожжевых культур на СДБ был выше на 20 % (табл. 3).

Средняя скорость роста культур через 50 ч эксперимента колебалась в пределах 1,27 – 1,75 %/ч, и была выше для *Candida* на СДБ.

Таблица 3. Ростовые характеристики бактерий и дрожжей в эксперименте

Table 3. Growth characteristics of bacteria and yeasts in experiment

Культура	Относительный прирост биомассы, $\Delta B_{\text{max. отн.}}, \%$		Средняя скорость прироста, $V_{\text{ср. отн.}} = \Delta B_{\text{max. отн.}} / \Delta t$	
	через 50 ч	через 75 ч	через 50 ч	через 75 ч
101 (<i>Vibrio</i>)	63,6	66,1	1,27	0,88
104 (<i>Vibrio</i>)	75,4	76,3	1,51	1,02
1 (пептон)	71,6	74,4	1,43	0,99
(<i>Candida</i>)				
5 (пептон)	66,7	69,5	1,33	0,93
(<i>Candida</i>)				
1 (СДБ) (<i>Candida</i>)	87,4	88,3	1,75	1,18
5 (СДБ) (<i>Candida</i>)	84,5	85,7	1,69	1,14

Таким образом, результаты исследования показали, что дрожжи в несколько раз активнее растут на специальной среде (СДБ), при этом в тех случаях, когда эти

микроорганизмы растут на пептонной воде существенных различий между ростом бактерий и дрожжей не выявлено.

Выводы. 1. В результате проведенных экспериментов отмечена максимальная биомасса у бактерий рода *Vibrio*. 2. Скорость прироста биомассы для всех бактерий максимальна за первые 50 ч (0,98 – 1,31 %/ч), а затем постепенно снижается (0,35 – 0,46 %/ч). 3. Скорость прироста биомассы дрожжей также максимальна за первые 50 ч (1,62 – 1,72 %/ч), а затем постепенно снижается (0,55 – 0,58 %/ч). 4. Прирост биомассы у дрожжей, в отличие от бактерий, с течением времени возрастает. 5. Существенных различий между ростом бактерий и дрожжей на пептоне не обнаружено. 6. Дрожжи в 2–3 раза активнее растут при наличии глюкозы и источника азота. 7. Отсутствие необходимых компонентов в среде замедляет рост дрожжей и может тормозить процессы трансформации загрязняющих веществ.

1. Дорошенко Ю. В. Микрофлора акватории в районе размещения систем гидробиологической очистки морских вод // Экология моря. – 2007. – Вып. 73. – С. 36 – 43.
2. Квасников Е. И. Дрожжи. Биология. Пути использования. – Киев: Наук. думка, 1991. – 326 с.
3. Миронов О. Г., Дорошенко Ю. В. Нефтеоокисляющие дрожжи перифитона систем гидробиологической очистки морских вод // Морск. экол. журн. – 2007. – 6, №2. – с. 58 – 62.
4. Практикум по микробиологии. / Под ред. Нетрусова А. И. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г. Севастополь

Получено 07.09.2008

J. V. DOROSHENKO

**INVESTIGATION OF THE GROWTH CHARACTERISTICS
OF BACTERIA AND YEASTS OF PERIPHYTON OF SYSTEMS
OF HYDROBIOLOGICAL CLEANING OF MARINE WATERS**

Summary

Some growth characteristics of marine bacteria and yeasts, which were isolated from periphyton of the system of the hydrobiological cleaning of marine waters, were studied. It was established, that yeasts are grown actively with glucose and source of nitrogen. The essential differences between growth of bacteria and yeasts on peptone were not discovered. It was determined; those increases of biomass of yeasts are risen in the course of time unlike bacteria.