

3. Beam C. A., Mortimer R. K., Wolfe R. G., Tobias C. A. Arch. Biochem. Biophys. 49, 1, 110—122, 1954.
4. Burns V. W. Radiation Res., 4, 2, 394—399, 1956.
5. Sedlak J. and Lindsay R. H. Analytical Biochemistry, 28, 1, 192—205, 1969.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

УДК 576.854.3095.322.2

RHODOPSEUDOMONAS SP. ШТАММ Д-4-ФОТОТРОФНАЯ БАКТЕРИЯ ИЗ МИНЕРАЛЬНОГО ИСТОЧНИКА ДЖЕРМУКА

А. Х. ПАРОНЯН, Т. А. ГАБАЕВА, М. Н. МАЛАТЯН

Из сульфатно-гидрокарбонатной воды минерального источника Джермука выделена чистая культура несерной пурпурной бактерии и изучены ее морфофизиологические особенности. В качестве единственного источника углерода она использует ряд органических кислот и сахаров, а из источников азота—соли аммония, некоторые аминокислоты и мочевины. В зависимости от источника углерода культура растет и развивается в широком диапазоне значений pH (5,0—10,0). На средах с сахарами она накапливает в большом количестве кислоты, в связи с чем значительно снижается pH среды. Выделенная культура отнесена к роду *Rhodopseudomonas* и обозначена шт. Д-4. Она близка к *Rhodopseudomonas capsulata*, однако отличается от нее некоторыми физиологическими особенностями.

Ключевые слова: минеральная вода, фототрофные бактерии, род *Rhodopseudomonas*.

Выделение и изучение фототрофных бактерий из различных природных водоемов, отличающихся по своим физико-химическим характеристикам, представляют большой интерес как с точки зрения систематики и экологии, так и практического использования этих организмов. Последнее связано с проблемой получения дешевых кормовых концентратов, биологически активных соединений, очистки сточных вод и т. д. [2, 3, 7, 8].

Настоящая работа посвящена изучению морфофизиологических особенностей несерной пурпурной бактерии, выделенной из минерального источника Джермука.

Материал и методика. Исследуемый штамм пурпурной бактерии выделен из сульфатно-гидрокарбонатно-натриевой воды минерального источника Джермука с содержанием минеральных солей около 5 г/л, pH 7,1 и температурой 30°.

Накопительную культуру получали методом Виноградского в цилиндрах, а также высевом образцов минеральной воды в среду Ормеруда [9] с различными источниками углерода и дрожжевым экстрактом. Чистая культура выделялась методом серийных разведений накопительной культуры и посева в агаризованную среду Ормеруда в пробирках с последующим пересевом отдельно выросших в глубине агара колоний на среду того же состава. Чистоту ее проверяли под микроскопом и высевом на питательные среды МПА и среду Постгейта для сульфатредуцирующих бактерий [1].

Культуру выращивали на среде Ормеруда с малатом натрия (2,0 г/л). Начальное значение pH среды—7,0—7,2; температура культивирования—28—30°; она росла в

анаэробных условиях при освещении 1500—2000 лк, а также в микроаэрофильных и аэробных условиях в темноте. Морфологию бактерий исследовали с помощью светового микроскопа с фазовым контрастом и электронного микроскопа. Жгутиковый аппарат изучали методом негативного контрастирования ФВК, тонкое строение клеток — методом ультратонких срезов. Препараты просматривались в электронном микроскопе BS-613 (Тесла). Отношение микроорганизмов к различным органическим соединениям устанавливали посредством добавления их в среду в концентрации 0,1%. Гидролизат казеина, мочевину и неорганические соли азота добавляли в количестве 290 мг/л по азоту. Биомассу определяли на спектрофотометре СФ-16 при длине волны 650 нм. Спектры поглощения целых клеток определяли на регистрирующем спектрофотометре СФ-10 с расширенной шкалой. Глюкозу определяли применением микроцида (глюкозооксидазы) [5].

Результаты и обсуждение. Морфология культуры. Клетки изучаемой культуры, обозначенной нами как шт. Д-4, сферические или овальные, размером $1,2-2,2 \times 1,0-1,2$ мкм, часто образуют зигзагообразные короткие цепочки, характерные для *Rhodopseudomonas capsulata* (рис. 1). Они подвижны благодаря одному полярно расположенному жгутику; делятся путем перетяжки; грамтрицательны. На поверхности агара в темноте в аэробных условиях культура образует темно-красного цвета колонии со светлым ровным краем, выпуклые, гладкие, мягкой консистенции, диаметром 0,5—3 мм; в глубине агара на свету — чевицеобразные колонии красного цвета.

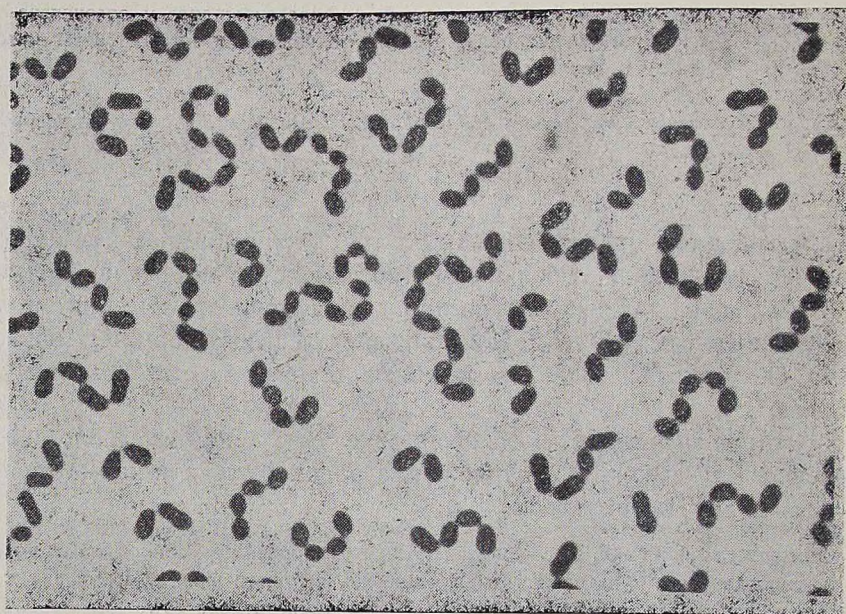


Рис. 1. Клетки культуры Д-4, выращенной в анаэробных условиях на свету. (Фазовый контраст, $\times 2500$).

Электронно-микроскопические исследования ультратонких срезов показали, что изучаемые бактерии обладают фотосинтезирующей мембранной системой везикулярного типа.

Пигменты культуры. С целью установления пигментного состава, а также влияния условий культивирования на синтез пигментов снимали

спектры поглощения целых клеток культуры Д-4, выращенной в различных условиях. На кривой, представленной на рис. 2, обнаруживается ряд пиков, обусловленных поглощением бактериохлорофилла и каротиноидов. Основные максимумы поглощения целых клеток, выращенных в условиях фотосинтеза (кривая 1), приходятся на 454, 482, 512, 590, 800 и 855 нм, что свидетельствует о наличии бактериохлорофилла *a* и набора каротиноидов. Цвет культуры, выращенной в анаэробных усло-

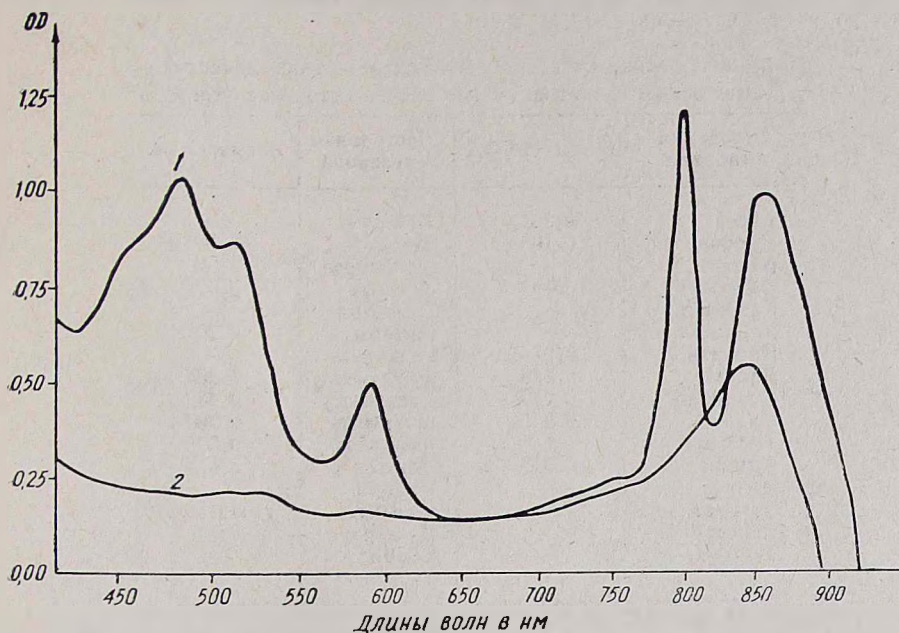


Рис. 2. Изменение спектра поглощения целых клеток культуры Д-4 при выращивании на средах с различным количеством глюкозы через 96 ч: 1—содержание глюкозы в среде 1,5 г/л, 2—то же 2,5 г/л.

виях на свету, при последующем встряхивании в присутствии кислорода, меняется от желто-коричневого до коричневатого-красного, что, по-видимому, указывает на наличие сфероидина и гидроксисфероидина—каротиноидов, принадлежащих к альтернативной серии спириллоксантина, которые в присутствии кислорода превращаются в соответствующие кетокаротиноиды [6].

Физиологические особенности. Культура Д-4 фотоорганотрофна, способна к росту как на свету в анаэробных условиях, так и в темноте в аэробных условиях. Цвет клеточной суспензии, выращенной в условиях фотосинтеза, желтовато-коричневый. В темноте в микроаэрофильных условиях образует розовое кольцо на уровне поверхности среды; на агаризованных средах—ярко-красные колонии. В темноте в анаэробных условиях не растет. Организм мезофильный, температурные границы роста—от 23 до 42°. Оптимальная температура роста—28—30°.

Диапазон значений pH, при которых культура растет, довольно широкий—5,0—10,0. Оптимальное значение pH находится в зависимости от источника углерода. Так, если накопление биомассы на среде Ормеруда с малатом происходит начиная от pH 5,0, то на той же среде с

глюкозой рост культуры наблюдается при более высоких значениях рН (6,5—10,0). Следует отметить, что *Rhodopseudomonas acidophila* растет в диапазоне рН 4,8—7,0 при оптимуме 5,8 [10, 12].

В качестве фактора роста культура Д-4 нуждается в тиамине.

Толерантность к концентрации NaCl в среде невысокая—1,5—2%.

В качестве источника углерода и донора электронов культура может использовать различные органические соединения (табл. 1). Хо-

Таблица 1

Использование культ. рой Д-4 различных органических соединений в качестве единственного источника углерода

Источники углерода	Биомасса, ОД	Источники углерода	Биомасса, ОД
Ацетат	0,251	Оксалат	—
Пропионат	0,103	Бензоат	—
Валерат	—	Арабиноза	—
Капронат	—	Ксилоза	0,184
Капринат	—	Рамноза	—
Каприлат	—	Глюкоза	0,207
Пируват	0,276	Галактоза	—
Лактат	0,229	Фруктоза	0,237
Сукцинат	0,410	Сахароза	0,432
Малат	0,245	Мальтоза	0,207
Тартрат	—	Рафиноза	0,375
Фумарат	0,357	Лактоза	—
Цитрат	—	Инулин	—
Бутират	—	Маннит	0,113
Пеларгонат	—	Дульцит	—
Формиат	—	Сорбит	—

(—) — отсутствие роста.

роший ее рост обеспечивают сукцинат, фумарат, пируват, ацетат, малат, сахароза, рафиноза, фруктоза, мальтоза, глюкоза. Таким образом, изучаемая культура проявляет широкие возможности по использованию различных соединений углерода. В качестве единственного источника углерода, кроме органических кислот, она может использовать также ряд углеводов и в отличие от *Rhodopseudomonas capsulata*—низкомолекулярный спирт маннит.

В качестве источников азота штамм Д-4 использует различные соли аммония, некоторые аминокислоты (DL-аланин, L-глутамин, L-аргинин) и мочевины. Культура неспособна использовать нитраты и нитриты.

Как уже отмечалось, наряду с другими источниками углерода рост культуры обеспечивают и сахара. При выращивании организма на среде Ормеруда с глюкозой, фруктозой, сахарозой, мальтозой и ксилозой в качестве единственного источника углерода отмечается постепенное изменение цвета клеточной суспензии: из желтовато-коричневого он становится на третьи сутки зеленовато-серым. Выяснено, что это связано с накоплением в среде кислот, приводящим к значительному падению рН среды (рис. 3). По-видимому, при низких значениях рН пигменты претерпевают изменения; на это указывает также изменение спектра поглощения целых клеток культуры. На четвертые сутки культивирова-

ния, параллельно с подкислением среды, постепенно исчезают несколько пиков, характерных для каротиноидов; остается всего один пик в зоне поглощения бактериохлорофиллов (рис. 2, кривая 2).

Следует отметить, что при этом клетки морфологически не меняются, хотя цепочки, характерные для данной культуры, разрываются. Жизнеспособность клеток сохраняется, и при последующем пересеве на полноценную питательную среду культура развивается нормально.

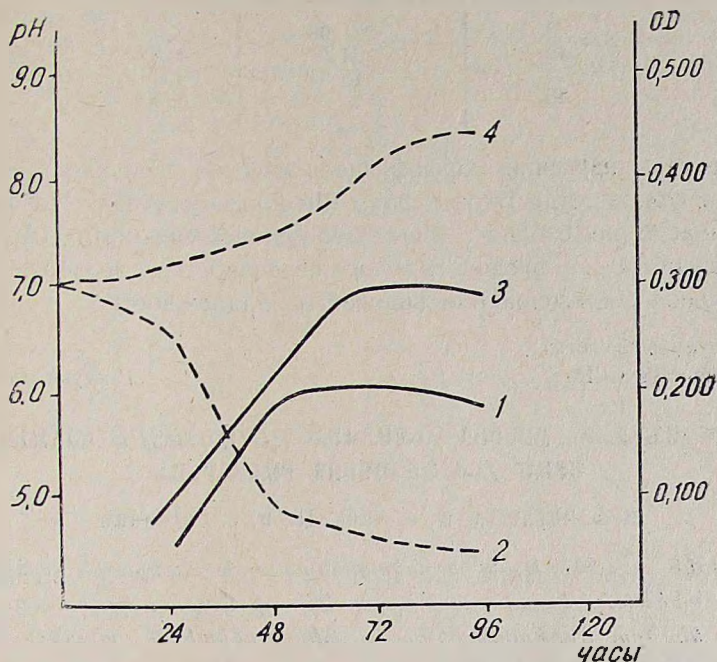


Рис. 3. Накопление биомассы и изменение pH культуры Д-4 в динамике роста на средах с разными органическими субстратами: 1—накопление биомассы на среде с глюкозой, 2—изменение pH на той же среде, 3—накопление биомассы на среде с малатом, 4—изменение pH на той же среде.

Падение pH среды до 3,5 описано и при росте *Rhodopseudomonas globiformis* на средах с глюкозой, фруктозой и маннитом [11], однако при этом автором не отмечено изменений цвета культуры.

Дальнейшие исследования культуры в этом направлении проводились только с глюкозой. При начальной концентрации сахара ниже 2 г/л описанного явления не наблюдается. Цвет культуры не изменяется и при одновременном присутствии в среде глюкозы и малата, а также при поддержании pH на постоянном уровне (в пределах pH 6,8—7,5) в процессе ее роста.

Определение количества глюкозы в среде в динамике роста культуры (табл. 2) подтверждает, что глюкоза полностью расходуется ею.

Известно, что значительное подкисление среды в процессе развития пурпурных бактерий является следствием накопления серной кислоты либо органических кислот [4]. Так как образование серной кислоты происходит лишь при окислении сероводорода или тиосульфата, а в употребляемой среде они отсутствуют, то можно предположить, что на

средах с сахарами изучаемая культура накапливает органические кислоты.

Таблица 2
Использование глюкозы культурой D-4
и изменение pH среды в динамике ее роста

Время инкубации	Количество глюкозы, мг %	pH среды
0	221,08	7,0
48	54,57	4,8
72	15,41	4,6
96	—	4,5

Результаты изучения морфофизиологических особенностей культуры D-4 позволяют отнести ее к роду *Rhodopseudomonas*. По большинству признаков она сходна с *Rhodopseudomonas capsulata* [12]. Дальнейшее изучение ее физиологических особенностей позволит сделать окончательное заключение о ее видовой принадлежности.

Институт микробиологии
АН Армянской ССР

Поступило 5.V 1982 г.

ՀԵՐՄՈՒԿԻ ՀԱՆՔԱՅԻՆ ԶՐԵՐԻՑ ԱՆՋԱՏՎԱԾ *RHODOPSEUDOMONAS* SP. ՇՏԱՄ D-4 ՖՈՏՈՏՐՈՓ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆ

Ա. Խ. ՊԱՐՈՆՅԱՆ, Թ. Ա. ԳԱԲԱԵՎԱ, Մ. Ն. ՄԱԼԱԹՅԱՆ

Զերմուկի սուլֆատային-հիդրոկարբոնատային հանքային ջրերից անջատվել է անձծամբ ծիրանագույն բակտերիայի մաքուր կուլտուրա: Ուսումնասիրվել են նրա մորֆոլոգիական և ֆիզիոլոգիական առանձնահատկությունները: Ստացված նախնական տվյալների հիման վրա բակտերիան դասվել է *Rhodopseudomonas* ցեղին և նշվել է որպես D-4 շտամ:

Այն մոտ է կանգնած *Rhodopseudomonas capsulata*-ին, սակայն իր որոշ ֆիզիոլոգիական հատկանիշներով տարբերվում է նրանից:

RHODOPSEUDOMONAS SP. D-4-PHOTOTROPHIC BACTERIUM SEPARATED FROM THE MINERAL SPRING OF JERMUK

A. Kh. PARONIAN, T. A. GABAEVA, M. N. MALATIAN

A pure culture of purple nonsulphur bacterium was isolated from sulphate-hydrocarbonate mineral spring of Jermuk.

Its morpho-physiological characteristics was studied. From preliminary data this organism was determined as *Rhodopseudomonas* sp. strain D-4.

This strain showed a close resemblance to *Rhodopseudomonas capsulata*. There were, however, some physiological differences between these species.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Каравайко Г. И., Кузнецов С. И., Голомзик А. И. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд. М., 1972.