

У ДК 631.461:631.445.24'4'51'56

## СВОЙСТВА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ CLOSTRIDIUM, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВ РАЗНЫХ ТИПОВ

В. Т. ЕМЦЕВ, А. К. МУХАМЕТДИНОВА  
(Кафедра микробиологии)

Для направленного регулирования различных биохимических процессов, происходящих в почве, важное значение имеют изучение эколого-географической изменчивости микробных почвенных сообществ и поиск путей управления их жизнедеятельностью [4, 7, 9, 11, 16—21].

Специфика видового состава микробоценозов обуславливается почвенно-климатическими и биологическими особенностями, присущими каждой почвенной зоне, которые также накладывают свой отпечаток на свойства обитателей этих ценозов [6, 16].

В литературе отсутствуют сведения о влиянии почвенно-климатических условий на свойства протеолитических Clostridium. В связи с этим представляет интерес изучить экологическую изменчивость указанных бактерий. В настоящем сообщении приведены данные о физиолого-биохимических особенностях споровых протеолитических анаэробов, выделенных из различных почв.

### Методика и условия проведения исследований

Объектом исследования служили культуры протеолитических Clostridium, выделенные из дерново-подзолистой почвы (опытное поле Тимирязевской академии), чернозема (Воронежская область), светло-

каштановой почвы (Кировабадская область) и серозема (Ташкентская область).

Чистую культуру протеолитических *Clostridium* выделяли двумя способами: 1) с помощью накопительных культур, которые получали в среде Китт—Тароци при 2-кратном пересеве по методу Скалона [24] с пастеризацией при температуре 85° в течение 10—15 мин и без нее; 2) путем прямого посева почвенной разводки (пастеризованного и непастеризованного вариантов) на чашки Петри со средой ССПА, предложенной нами ранее [3]. Выделение чистых культур анаэробов из накопительных проводили в трубках Вейона и в чашках Петри в анаэро-статах, где создавали вакуум с остаточным давлением  $10^{-1}$  мм рт. ст. В некоторых случаях их заполняли  $\text{CO}_2$  и  $\text{N}_2$ , а для поглощения удаленного  $\text{O}_2$  помещали щелочной раствор пирогаллола. В качестве поглотителя влаги использовали прокаленную окись алюминия. Температура инкубации посевов 37°.

Выделенные культуры протеолитических анаэробов были идентифицированы (всего 29 штаммов) согласно определителю Берги [25] и отнесены к соответствующим видам рода *Clostridium*: *Cl. subterminale* — 2 штамма; *Cl. bif fermentans* — 8; *Cl. sporogenes* — 13; *Cl. lentoputrescens* — 1; *Cl. ghoni* — 1; *Cl. putrificum* — 2; *Cl. cadaveris* — 1; *Cl. acetobutylicum* — 1 штамм.

Протеолитическую активность выделенных культур определяли по увеличению количества тирозина в процессе протеолиза растворов казеина и гемоглобина. Для определения содержания тирозина использовали реактив Фолина [26]. Интенсивность окраски окрашенных растворов измеряли на спектрофотометре фирмы «Gilford» при длине волны света 570 нм. За единицу протеолитической активности принимали такое количество фермента, которое катализирует за 60 мин при 37° отщепление от казеина 1 мкмоль тирозина.

О трансформации белковых веществ анаэробами судили по изменению содержания в питательной среде белков, пептидов и свободных аминокислот [10]. Количество белков и пептидов определяли по биуретовой реакции — культуры выращивали в обезжиренном молоке с мелом и 0,08 % цистеина (оптическую плотность растворов устанавливали при длине волны света 584 нм на спектрофотометре фирмы «Gilford» с проточной кюветой), свободных аминокислот — по нингидриновой реакции при длине волны 570 нм.

Разделение свободных аминокислот в культуральной жидкости проводили методом нисходящей хроматографии на бумаге [23].

Трансформацию белковых веществ методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) определяли по Мауреру [15]. Белковые вещества разделяли в 7,5 % ПААГ (рН 8,3—8,9) в аппарате для электрофореза «Модель 96» Реанал (Венгрия). По окончании электрофореза гелевые колонки фиксировали уксусной кислотой и окрашивали амидошварцем для выявления позиций белков. Для установления интенсивности окраски белковых фракций окрашенные гелевые колонки спектрофотометрировали при 605 нм на спектрофотометре «Gilford».

Из продуктов брожения белков определяли летучие жирные кислоты (ЛЖК) методом газовой хроматографии, основанном на их выделении из образца при паровой дистилляции, концентрации, перевод их в метиловые эфиры и разделение газовой смеси на отдельные компоненты — на газожидкостном хроматографе «Сhrom 4» с пламенно-ионизационным детектором на стальной спиралевидной колонке длиной 1 м. Твердый носитель — целлит-545. Жидкая подвижная фаза — смесь реоплекса 400 с 2 % -ным раствором фосфорной кислоты. Температура термостата 80°. Идентификацию ЛЖК проводили по времени удерживания: пики метиловых эфиров ЛЖК располагались в порядке возрастания молекулярной массы.

Протеолитическая активность культур *Clostridium* в среднем по ряду штаммов  
(ед. на 1 мл культурального фильтрата)

Почва	<i>Cl. bifermentans</i>		<i>Cl. sporogenes</i>	
	субстрат			
	казеин, рН 8,0	гемоглобин, рН 7,5	казеин, рН 8,0	гемоглобин, рН 7,5
Дерново-подзолистая	34,7	11,2	31,3	9,2
Чернозем	39,1	17,3	46,8	16,7
Светло-каштановая	53,7	21,0	54,6	23,6
Серозем	53,1	22,3	56,3	26,4

Определение спиртов в культуральной жидкости протеолитических *Clostridium* проводили газохроматографически на ГЖХ 8 МД с пламенно-ионизационным детектором на двухметровой стальной колонке [22]. Твердый носитель — целлит-545. Жидкая неподвижная фаза —  $\beta\beta'$ -оксидипропионнитрил (10 %). Газ-носитель — азот, скорость его — 30 мл/мин. Температура хроматографии — 20°. Идентификацию спиртов проводили по времени выхода стандартных алкилнитритов, которые готовили в аналогичных условиях, используя водные 0,1 %-ные растворы спиртов.

Для характеристики сопряженной окислительно-восстановительной реакции Стикленда у протеолитических *Clostridium* определяли следующие метаболиты: аммиак колориметрически с реактивом Несслера [1] и летучие жирные кислоты.

### Результаты и обсуждение

Протеолитическая активность *Clostridium*. Все исследованные культуры *Clostridium* выделяли в культуральную жидкость экзопротеазы, активность которых у разных бактерий в стандартных условиях протеолиза, указанных в методической части, при расщеплении казеина (рН 8,0) и гемоглобина (рН 7,5) варьировала соответственно в пределах 31,3—56,3 и 9,2—26,4 ед. на 1 мл (табл. 1).

Протеолитическая активность культур *Cl. bifermentans* и *Cl. sporogenes* из разных типов почв была различной: наиболее высокой у культур, выделенных из светло-каштановой почвы и серозема, наименьшей — у культур из дерново-подзолистой почвы. Так, при протеолизе раствора казеина протеолитическая активность у культур *Cl. bifermentans* и *Cl. sporogenes*, изолированных из дерново-подзолистой почвы, составляла в среднем соответственно 34,7 и 31,3 ед., а у тех же видов, выделенных из серозема, — 53,1 и 56,3 ед. на 1 мл. Подобные различия наблюдались и при расщеплении гемоглобина.

Таким образом, культуры *Clostridium*, выделенные из различных почв, отличаются друг от друга по способности продуцировать протеолитические ферменты.

Трансформация белковых веществ протеолитическими *Clostridium*. Известно, что при гидролизе белков под действием протеолитических ферментов микроорганизмов образуются пептиды и свободные аминокислоты. Сведения о продуктах протеолиза белковых соединений у почвенных протеолитических *Clostridium* в литературе отсутствуют.

В наших исследованиях все изученные микроорганизмы осуществляли гидролиз белков молока, который сопровождался увеличением уровня пептидов и свободных аминокислот, концентрация белков при этом снижалась.

Трансформация белковых веществ молока протеолитическими *Clostridium*

Почва	Штамм	Белки	Пептиды	Свободные аминокислоты, мг%
		г/100 мл		
Стерильное обезжиренное молоко				
		2,67	17,21	18,50
	<i>Cl. sporogenes</i>			
Дерново-подзолистая	107	0,30	149,52	110,85
	109	0,21	122,40	193,77
Чернозем	114	0,27	202,35	13,74
	230	0,27	176,65	80,25
	244	2,39	31,36	19,19
	248	0,17	88,44	178,83
	150	0,15	114,38	109,95
	251	0,38	179,00	106,14
Светло-каштановая	252	0,19	105,18	129,16
	301	0,30	71,69	132,96
Серозем	305	0,38	71,69	44,52
	410	0,16	79,94	134,75
	<i>Cl. bifermentans</i>			
Дерново-подзолистая	106	2,46	27,35	41,53
	113	1,76	44,33	69,76
Чернозем	226	2,38	14,38	18,36
	241	2,38	20,51	17,47
	246	0,29	174,04	158,73
Светло-каштановая	310	0,39	94,59	242,17
Серозем	413	0,23	72,63	129,82
	423	0,22	68,15	163,14
	<i>Cl. subterminale</i>			
Дерново-подзолистая	105	0,39	179,23	148,72
Светло-каштановая	311	0,25	99,28	45,04
	<i>Cl. lentoputrescens</i>			
Чернозем	230	0,31	165,79	142,22
	<i>Cl. ghoni</i>			
Светло-каштановая	306	0,39	145,27	171,95
	<i>Cl. acetobutylicum</i>			
Серозем	414	0,27	84,19	205,18
	<i>Cl. putrificum</i>			
Серозем	402	0,33	97,87	102,09
	416	0,38	47,40	17,97
	<i>Cl. cadaveris</i>			
Серозем	415	0,27	67,21	138,34

У большинства культур *Clostridium* протеолитическая активность была достаточно высокой. Их рост в указанной среде сопровождался снижением уровня белков — в среднем в 10—15 раз по сравнению с исходным количеством, однако у штаммов *Cl. bifermentans*, выделенных из дерново-подзолистой почвы и чернозема, и одного штамма *Cl. sporogenes* из чернозема содержание белков снизилось незначительно. Бактерии из южных почв активно трансформировали данные соединения.

В процессе гидролиза белков протеолитическими *Clostridium* концентрация пептидов у большинства культур превышала контрольный

уровень в среднем в 5—10 раз. У микроорганизмов, отличавшихся слабой протеолитической активностью, содержание пептидов возрастало мало. Кроме того, небольшой прирост пептидов был обнаружен у *Cl. acetobutylicum*, *Cl. putrificum*, *Cl. cadaveris*, а также у штаммов *Cl. sporogenes*, *Cl. bifementans* и *Cl. subterminale*, выделенных из южных почв, обладающих высокой протеолитической активностью. В последнем случае это связано со значительной пептидазной активностью культур.

Количество свободных аминокислот, образующихся при гидролизе белков и пептидов, у *Clostridium* с высокой протеолитической активностью в среднем было в 5—10 раз выше, чем в контроле, а у культур с более низкой протеолитической активностью их содержание превышало исходный уровень всего в 1,5—3 раза или было равно ему. Часть освобожденных аминокислот у некоторых культур с высокой протеолитической активностью частично усваивалась ими, что также приводило к некоторому накоплению указанных соединений. Следовательно, «спектр» свободных аминокислот у исследованных культур зависит от протеолитической активности, а также от их специфических потребностей в аминокислотах.

Таким образом, наши исследования показали, что протеолитические *Clostridium* осуществляют трансформацию белковых веществ, которая сопровождается значительным снижением концентрации белков в среде, увеличением количества пептидов и накоплением свободных аминокислот. При этом интенсивность гидролиза белковых соединений зависит не только от протеолитической активности данного вида анаэробных бактерий, но и от типа почвы, из которой была выделена культура *Clostridium*.

Изучение трансформации белковых веществ протеолитическими *Clostridium*, выделенными из различных типов почв, методом электрофореза в ПААГ показало, что по мере продвижения к югу протеолитическая активность указанных бактерий возрастает. При анализе электрофоретических белковых спектров, полученных при гидролизе белков протеолитическими *Clostridium*, обнаружено, что культуры из дерново-подзолистой почвы представляли собой сравнительно слабые протеолиты,  $\alpha$ - и  $\beta$ -фракции казеина они не гидролизовали. То же самое можно сказать и о культурах из чернозема. Эти бактерии не обладали способностью к глубокому протеолизу и образовывали много пептидов и других белковых фрагментов (от 3 до 7 фракций).

Бактерии из светло-каштановой почвы и серозема проявляли высокую протеолитическую активность, выражающуюся в гидролизе  $\alpha$ - или  $\beta$ -фракций казеина, а также в гидролизе сразу обеих фракций. При их протеолизе образуется мало пептидов (2—4 фракции) и много низкомолекулярных продуктов.

Интенсивность трансформации белковых веществ бактериями *Cl. sporogenes* зависит от типа почвы. Самый слабый протеолиз белковых фракций характерен для культуры *Cl. sporogenes* из дерново-подзолистой почвы, у того же микроорганизма из серозема он достигал максимума.

Таким образом, с помощью метода электрофореза в ПААГ протеолитическая активность обнаружена у всех исследованных культур *Clostridium*. Бактерии из дерново-подзолистой почвы и чернозема не обладали способностью к глубокому протеолизу и образовывали много пептидов и других белковых фрагментов, в то время как культуры из светло-каштановой почвы и серозема образовывали мало пептидов и много низкомолекулярных продуктов. Интенсивность трансформации белковых веществ у одних и тех же штаммов *Cl. sporogenes* также изменялась в зависимости от типа почвы.

Окислительно-восстановительная реакция Стикланда. Многие виды *Clostridium*, развиваясь на средах, в которых

Экологическая характеристика культур *Cl. sporogenes* по реакции Стикленда

Аминокислоты	Летучие жирные кислоты, мг %			Аммиак, мг в 100 мл буфера
	муравьиная	уксусная	масляная	
Дерново-подзолистая почва				
Глицин	0,31	0	0,78	0,68
Лейцин	0,33	0	0,69	0,70
Глицин + лейцин	0,21	0	1,08	0,92
Чернозем				
Глицин	0,26	0	0,34	0,38
Лейцин	0,13	0	0,53	0,44
Глицин + лейцин	0,44	0	0,68	0,46
Светло-каштановая почва				
Глицин	0,33	0	0,82	0,38
Лейцин	0,23	0,64	0,42	0,64
Глицин + лейцин	0,25	0,64	0,65	0,80
Серозем				
Глицин	0,05	1,22	0	0,30
Лейцин	0,46	0,89	0,78	0,15
Глицин + лейцин	0,48	1,00	1,14	0,46

содержатся гидролизаты белков или смесь аминокислот, получают большую часть энергии для анаболических реакций в процессах катаболизма двух соответствующих аминокислот. Такое сопряженное расщепление аминокислот носит название реакции Стикленда [2]. Окислительно-восстановительная реакция Стикленда в настоящее время описана только у облигатных анаэробов, поэтому данный тип энергетических процессов может считаться специфическим для указанных микроорганизмов. Окислительно-восстановительная реакция Стикленда у протеолитических анаэробных бактерий рода *Clostridium* изучена недостаточно. Она совершенно не оценена у почвенных протеолитических *Clostridium* в экологическом аспекте. У всех исследованных нами культур *Cl. sporogenes* в присутствии глицина и лейцина отмечена реакция Стикленда (табл. 3), на что указывало появление в среде метаболитов—продуктов, типичных для данной реакции.

Катаболизм глицина и лейцина у этих микроорганизмов приводил к образованию аммиака и летучих жирных кислот: муравьиной, уксусной и масляной. У всех культур по окончании реакции Стикленда сумма летучих жирных кислот и количество аммиака были выше, чем при инкубации их в присутствии одного глицина или одного лейцина. Это свидетельствует о том, что пара аминокислот, взятая вместе, расщепляется протеолитическими анаэробами гораздо быстрее. Культуры *Cl. sporogenes*, выделенные из разных типов почв, несколько различаются по катаболизму указанных аминокислот в ходе реакции Стикленда. Так, у культур *Cl. sporogenes* из дерново-подзолистой почвы и чернозема в присутствии глицина и лейцина найдены муравьиная и масляная кислоты, а также аммиак. У культур *Cl. sporogenes*, выделенных из светло-каштановой почвы и серозема, кроме отмеченных выше метаболитов, обнаружена уксусная кислота. Необходимо подчеркнуть, что все культуры *Cl. sporogenes* осуществляли дезаминирование аминокислот при наличии только одного глицина или одного лейцина.

Следовательно, культуры *Cl. sporogenes* из разных почв отличаются друг от друга соотношением продуктов реакции Стикленда и образующим метаболитам.

Состав ЛЖК, продуцируемых почвенными протеолитическими *Clostridium*  
(% суммарного количества)

Почва	Штамм	Муравьиная	Уксусная	Пропионовая	Масляная
<i>Cl. sporogenes</i>					
Дерново-подзолистая	107	3,7	59,4	6,6	30,3
	114	Сл.	45,2	0	55,8
Чернозем	230б	4,4	68,0	Сл.	27,6
	244	4,4	70,2	5,9	19,5
	248	1,1	72,4	0	27,5
	250	3,0	69,4	4,3	23,3
Светло-каштановая	301	1,6	79,4	8,8	10,2
	308	3,8	84,6	11,6	Сл.
Серозем	410	1,4	90,2	3,6	4,8
<i>Cl. bifermentans</i>					
Дерново-подзолистая	106	2,4	56,6	9,6	31,4
	113	4,3	65,5	5,9	24,4
Чернозем	226	3,8	60,3	6,5	29,4
	241	3,9	75,4	7,5	13,2
	246	4,5	67,9	4,7	22,9
Светло-каштановая	310	3,3	84,9	1,0	11,8
	Серозем	413	3,1	89,6	0,6
<i>Cl. lentoputrescens</i>					
Дерново-подзолистая	105	1,6	50,6	2,9	44,9
Светло-каштановая	311	0,6	95,0	3,5	0,9
<i>Cl. lentoputrescens</i>					
Чернозем	230а	3,5	61,3	6,9	28,3
<i>Cl. ghoni</i>					
Светло-каштановая	306	2,7	63,0	6,9	27,4
<i>Cl. putrificum</i>					
Серозем	416	4,2	95,8	0	Сл.
<i>Cl. cadaveris</i>					
Серозем	415	5,2	83,5	11,3	Сл.

Продукты брожения белков у протеолитических *Clostridium*. Нами были определены наиболее характерные продукты брожения (ЛЖК) при выращивании культур в среде для протеолитических анаэробов (СПА), в которой отсутствовали углеводы.

Известно, что при росте на средах, содержащих гидролизаты белков или смесь аминокислот, протеолитические *Clostridium* продуцируют ЛЖК. В наших опытах все изученные культуры образовывали ЛЖК, среди которых преобладала уксусная кислота в отличие от сахаролитических видов, у которых главным продуктом является масляная кислота [6, 8, 12, 13, 27]. У культур *Cl. sporogenes*, *Cl. bifermentans*, *Cl. subterminale*, выделенных из дерново-подзолистой почвы и чернозема, в составе продуктов брожения было меньше уксусной, но больше масляной кислоты, чем у штаммов, изолированных из более южных почв (табл. 4). Так, у разных штаммов *Cl. sporogenes* из дерново-подзолистой почвы уксусная кислота составляла 45,2—59,4%, а масляная — 30,0—55,8% суммарного количества ЛЖК, в то время как в культуре этого же микроорганизма из серозема — соответственно 90,2 и 4,8%. У культур *Cl. bifermentans*, выделенных из различных почв, соотношение летучих жирных кислот изменялось аналогично, т. е. по мере продвижения к югу в составе летучих кислот возрастало процентное содержание уксусной кислоты и уменьшалась доля масляной. По проду-

Образование спиртов культурами *Cl. sporogenes* (мг%)

Почва	Штамм	Этиловый	Пропиловый	Изобутиловый	Бутиловый	Изоамиловый	Амиловый
Дерново-подзолистая	114	75	Сл.	2	26	21	Сл.
Чернозем	248	200	»	3	13	Сл.	»
Светло-каштановая	301	212	»	Сл.	4	1	2
Серозем	410	289	3	3	5	Сл.	Сл.

цированию муравьиной и пропионовой кислот исследованные культуры протеолитических *Clostridium* существенно не различались.

В литературе указывается на способность протеолитических *Clostridium* образовывать спирты [25]. Штаммы *Cl. sporogenes*, выделенные из разных почв, в наибольшем количестве образуют этиловый спирт, они продуцируют также незначительное количество бутанола и изобутанола (табл. 5). Все остальные спирты обнаружены в основном в следовых количествах. У *Cl. sporogenes* из дерново-подзолистой почвы содержание этилового спирта было наименьшее, а бутанола — наибольшее, у *Cl. sporogenes* из серозема меньше содержалось бутанола и больше этанола.

Таким образом, изучение продуктов брожения белков протеолитическими *Clostridium* показало, что в составе ЛЖК преобладает уксусная кислота. Культуры *Cl. sporogenes*, *Cl. bifermentans* и *Cl. subterminale*, изолированные из дерново-подзолистой почвы и чернозема, образуют меньше уксусной и больше масляной кислоты, а те же микроорганизмы из светло-каштановой почвы и серозема — больше уксусной и меньше масляной кислоты. Из спиртов у *Cl. sporogenes* в наибольшем количестве выявлен этанол, содержание которого было больше у штаммов из южных почв; штаммы из более северных почв образовывали больше бутанола.

Итак, свойства различных штаммов протеолитических анаэробных бактерий рода *Clostridium* (*Cl. sporogenes* и *Cl. bifermentans*), выделенных из разных типов почв, неодинаковы. Это дает основание говорить о существовании экологических рас указанных микроорганизмов.

### Выводы

1. По способности продуцировать протеолитические ферменты *Clostridium* из различных почв отличаются друг от друга: наиболее высокой протеолитической активностью обладают культуры, выделенные из светло-каштановой почвы и серозема, наименьшей — культуры из дерново-подзолистой почвы.

2. Интенсивность гидролиза белковых соединений зависит не только от протеолитической активности данного вида анаэробных бактерий, но и от типа почвы, из которой была выделена культура *Clostridium*.

3. *Cl. sporogenes*, изолированные из разных типов почв, характеризуются различным соотношением продуктов реакции Стикланда, а также отличаются друг от друга по образуемым метаболитам.

4. Культуры *Cl. sporogenes*, *Cl. bifermentans* и *Cl. subterminale*, изолированные из дерново-подзолистой почвы и чернозема, образуют меньше уксусной и больше масляной кислоты, чем выделенные из светло-каштановой почвы и серозема.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Аринушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв. М.: Изд-во МГУ, 1970. — 2. Баркер Х. Брожение азотистых органических соединений. — В кн.: Метабо-

- лизм бактерий. М.: ИЛ, 1963, с. 156—207. — 3. Горова А. К., Гудков А. В. Выделение протеолитических Clostridium из объектов внешней среды. — В сб.: Вклад молодых специалистов в повышение качества и эффективности производства в маслоделии и сыроделии. Ярославль, 1978, с. 103—104. — 4. Емцев В. Т. Распространение анаэробных бактерий рода Clostridium в различных почвенных зонах. — Докл. ТСХА, 1965, вып. 115, с. 133. — 5. Емцев В. Т. Анаэробные фиксаторы атмосферного азота, географическое распространение и активность. — Тез. докл. на IX Межд. конгр. по микробиологии. М., 1966, с. 286. — 6. Емцев В. Т. Систематика Clostridium. — Успехи микробиологии, 1968, вып. 5, с. 3—32. — 7. Емцев В. Т., Дзадзамия Т. Д. Выделение из почвы и получение чистых культур Cl. pasteurianum и Cl. acetobutylicum. — Изв. ТСХА, 1968, вып. 4, с. 33—41. — 8. Емцев В. Т., Розвожевская З. С. Влияние географических факторов на изменчивость анаэробных маслянокислых (Cl. butyricum) и бутиловых (Cl. butylicum) азотфиксирующих бактерий. — Изв. ТСХА, 1971, вып. 4, с. 18—26. — 9. Емцев В. Т., Дзадзамия Т. Д., Мурзаков Б. Г. Изменчивость некоторых физиологических свойств азотфиксаторов рода Clostridium. — В сб.: Новое в биолог. фиксации молекуляр. азота. М.: Наука, 1971, с. 160—167. — 10. Климовский И. И., Гудков А. В., Звягинцев В. И. Совершенствование методов подбора, производства и применения бактериальных заквасок с целью улучшения качества сыра. Углич, 1968. — 11. Летунова С. В., Ковальский В. В. Геохимическая экология микроорганизмов. М.: Наука, 1978. — 12. Мантейфель А. Я. Обзор литературы по микробиол. маслянокислого брожения. Микробиология, 1939, т. 8, вып. 6, с. 761—778. — 13. Мантейфель А. Я. Сравнительная характеристика возбудителей маслянокислого и ацетонобутилового брожения. — Микробиология, 1939, т. 8, с. 1096—1108. — 14. Маурер Г. Диск-электрофорез. М.: Мир, 1971. — 15. Мишустин Е. Н. Эколого-географическая изменчивость почвенных бактерий. М.: Изд-во АН СССР, 1947. — 16. Мишустин Е. Н. Микробные ассоциации и подходы к их изучению. — Микробиология, 1955, т. 24, вып. 4, с. 474—483. — 17. Мишустин Е. Н. Географический фактор и распространение почвенных микроорганизмов. — Изв. АН СССР, сер. биол., 1958, № 4, с. 661—667. — 18. Мишустин Е. Н. Почвенные типы и специфика их микронаселения. Физика, химия, биология и минералогия почв СССР. — Докл. к VIII Межд. конгр. почвоведов. М.: Наука, 1964, с. 229—238. — 19. Мишустин Е. Н. Географический фактор, почвенные типы и их микробное население. — В сб.: Микрофлора почв северной и средней части СССР. М.: Наука, 1966, с. 3—23. — 20. Мишустин Е. Н. Ассоциации почвенных микроорганизмов. М.: Наука, 1975. — 21. Мишустин Е. Н., Емцев В. Т. Почвенные азотфиксирующие бактерии рода Clostridium. М.: Наука, 1974. — 22. Новгородова Н. С., Бузов И. П., Неберт В. К. Совершенствование методов контроля в маслоделии и сыроделии. — Тр. ВНИИМС, 1978, с. 24—31. — 23. Пасхина Т. А. Количественное определение аминокислот на хроматограммах при помощи реакции с нингидрином. — Биохимия, 1954, т. 19, вып. 6, с. 702—712. — 24. Скалон И. С. Новый способ разделения аэробных и анаэробных видов микроорганизмов. — Микробиология, 1960, т. XXIX, вып. 6, с. 29—36. — 25. Bergey's Manual of Determinative Bacteriol. Eight ed. Buchanan R. E. and Gibbons N. E. coeditors. Baltimore, USA, 1974. — 26. Folin O., Ciokalten V. — J. Biol. Chem., 1927, vol. 73, p. 627—650. — 27. Lewis V., Moss C. W., Jones W. L. — Can. J. of Microbiol., 1967, vol. 13, p. 1033—1040.

*Статья поступила 3 ноября 1980 г.*

## SUMMARY

Ecological physiology of different strains of proteolytic anaerobic Clostridium bacteria — Cl. sporogenes and Cl. bifermentans — isolated from different types of soil and indentified according to Bergy's determinator has been studied.

Strains of proteolytic Clostridium bacteria from different soils differ significantly in their ability to produce proteolytic enzymes, in the intensiveness of hydrolysis of protein compounds, in the nature of protein fermentation products, etc. The data obtained allow to conclude that there exist ecological races of the microorganisms in question.