

## **Pseudomonas stutzeri denitrifikációs sajátságaival kapcsolatos vizsgálatok**

TIMÁR MÁTYÁS NÉ

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest

Az élőszervezetek által végrehajtott nitrátredukción két, élettani szempontból eltérő, anyagcsere folyamat megvalósulását biztosítja. Egyrészt, a nitrát nitrogén a sejtépítő folyamatok során hasznosul, másrészt a nitrát a disszimilációs folyamatokban az oxigént helyettesíti, mint terminális elektronakceptor.

A disszimilatív nitrátredukción esetében a nitrátreduktáz működése önmagában is biztosítani tudja a terminális oxidáció végső lépését. Ennek ellenére a nitrátreduktázt tartalmazó organizmusok többségükben nitrit reduktazt is tartalmaznak. Korábbi feltételezések szerint [2] a nitrit terminális elektronakceptorként nem vehető figyelembe, hanem a nitritreduktáz működésének élettani jelentősége a káros hatású nitritnek átalakítása nem mérgező terméké. *Micrococcus denitrificans* [3] *E. coli* [1] *Ps. aeruginosa* [7] organizmusokkal végrehajtott újabb vizsgálatok bebizonyították, hogy a nitrit önmagában is szerepelhet elektron akceptorként, és a nitritreduktáz működése a citokrom rendszer tagjaival kapcsolatos. *Pseudomonas stutzeri* intakt sejtjeivel végrehajtott saját korábbi vizsgálataink [6] során megállapítottuk, hogy endogén elektronodonornak és nitrátnak, mint terminális elektronakceptornak jelenlétében az összes nitrát előbb nitritté alakul, és csak a nitrát teljes felhasználása után indul meg a nitrit redukción.

Jelen munkánkban a nitrát és nitrit reduktáz indukcióját, valamint a két enzim koordinált működését befolyásoló tényezők vizsgálatának eredményeit közöljük.

### **Anyag és módszer**

#### a) *Organizmus, táptalaj.*

*Pseudomonas stutzeri* CCEB 522 törzsét használtuk, melyet ferdeagaron tartottunk fenn.

#### b) *Anyag előkészítése vizsgálathoz*

A kísérlet előtt legalább hat hétig hetenként kétszer, kémcsőben levő olyan folyékony táptalajra oltottuk át a sejteket, melyeknél a tenyésztési viszonyok lényegében azonosak voltak a kísérletben alkalmazott előtenyésztés körülményeivel. Ezek szerint, ha  $O_2$ -nek, mint elektronakceptornak jelenlétében kívántuk az organizmust előtenyészteni, a táptalaj nem tartalmazott

sem nitrátot, sem nitritet, a kémcsövek vattadugóval voltak lezárva. Elektron-akceptorként nitrátot, illetve nitritet tartalmazó táptalajba oltott tenyészetek zárásánál vatta és gumidugót használtunk. A nitrát-, illetve nitrit -N tartalom 4,9 mikromol/ml, illetve 7,2 mikromol/ml  $\text{KNO}_3$ , illetve  $\text{NaNO}_2$  formában adva.

A táptalaj egyéb összetevői mindhárom esetben azonosak voltak: Pepton 3 g, húskivonat 2,5 g, élesztő kivonat 1 g, almasav 2 g, Hoagland oldat 1 ml, 1000 ml puffer oldat, melynek összetétele:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  9,078 g/l,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  SÖRENSEN szerint 11,876 g/l. Keverési aránya 2 : 8, pH 7,38.

#### c) *Sejttömeg előállítás*

Egy napos tenyészetet 1 l-es lombikban levő 500 ml táptalajba oltottunk. A táptalaj összetétele azonos volt az előbbieken ismertetettekkel. A lombik csiszolt üveg dugóval volt lezárva, melyen gázcsere céljára megfelelő nyílások voltak. Aerob körülmények között tenyésztett sejtek esetében 5 l/h levegő áramlott át a tenyészetben. A nitrátot, illetve nitritet tartalmazó táptalajokban levő tenyészeteket 5 l/h — levegőnyomoktól megtisztított —  $\text{N}_2$ -vel fujattunk keresztül. 24 órás tenyésztés után a sejteket centrifugálással elkülönítettük a táptalajtól, majd háromszor átmostuk pufferrel és végül pufferben szuszpendáltuk.

#### d) *Nitrát és nitrit redukció vizsgálata az eltérő elektronakceptorok jelenlétében tenyésztett sejteknél*

Függetlenül az előtenyésztés körülményeitől, a mosott sejtsuszpenzió nitrát és nitrit redukciós képességét az alábbi kezelések hatására vizsgáltuk: 1. endogén elektrondonor és nitrát elektronakceptorként, 2. endogén elektrondonor és nitrit, 3. külsőleg adott elektrondonor: almasav és nitrát, 4. almasav és nitrit jelenlétében. A nitrát és nitrit koncentrációja 3,5 mikromol nitrát vagy nitrit-, nitrogén/ml puffer. A külsőleg adott elektrondonort 10 mikromol/ml mennyiségben tartalmazta a szuszpenzió. A nitrát és nitrit redukciót aerob és anaerob körülmények hatására vizsgáltuk. Aerob körülményeket a szuszpenzió levegőztetésével biztosítottuk. Anaerob vizsgálatoknál THUNBERG csövekben helyeztük el a mintákat és a csöveket evakuáltuk.

Az egyes előtenyésztések után végrehajtott vizsgálatoknál sejtsűrűség a mintákban azonos volt. A sejtsűrűség mértékét fotométerrel 660 nm-en határoztuk meg a vizsgálat előtt és után. A sejtek szaporodása egyik kezelésben sem volt mérhető a vizsgálatok ideje alatt.

A nitrit keletkezésének, illetve eltűnésének sebességét a szuszpenzióból GRIES—ILOSVAY módszerrel mértük. Azokban az esetekben, mikor a nitrit nem volt kimutatható, nitrát jelenlétére kémltünk.

A vizsgálati idő általában 120 perc volt, mintavétel 30 percenként történt.

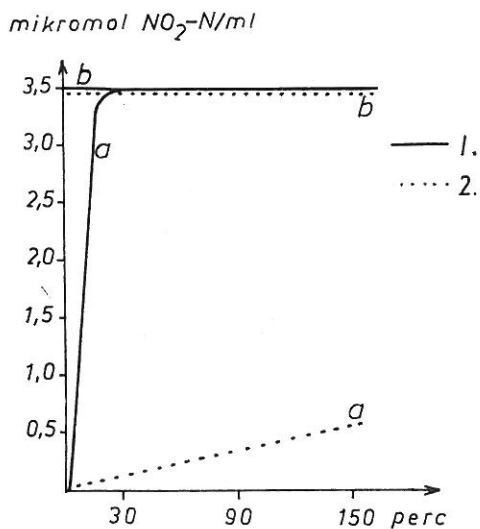
### **Eredmények megbeszélése**

Aerob tenyésztési körülmények között (nitrát vagy nitrit nélkül) szaporodott sejtek nitrát redukciós tulajdonságait az 1. ábrán mutatjuk be. Almasav és nitrát kezelés esetében a sejtsuszpenzió nitrát tartalma az első 30 percen teljes egészében nitritté alakul. A nitrit redukciója nem történik meg.

Endogén elektron donor jelenlétében is megindul a nitrátredukció, de ebben az esetben a folyamat sebessége lényegesen lassúbb. A nitrátredukció terméként keletkező nitrit redukciója ez esetben sem tapasztalható. A kísérletekből nyilvánvaló, hogy a nitrátreduktáz azokban a sejtekben is képződik, melyek előtenyésztésük során nitrát mentes táptalajban szaporodtak. A nitrát reduktáz működésének sebessége megközelítőleg azonos az olyan sejtek esetében tapasztalttal, melyek előtenyésztése nitrát jelenlétében levegő kizárásával történt. (Lásd 2. ábrán.) A kísérleti adatok alapján azt a következtetést kell levonni, hogy a *Ps. stutzeri*-nek nitrát reduktáza konstitutív enzim. Ennek a nitrát reduktáznak szintézise semmilyen kapcsolatban sincs a nitrit reduktáz szintézisével. Az irodalomból [4] ismeretes, hogy egy organizmuson belül többféle nitrát és nitrit reduktáz is kimutatható. Annak a kérdésnek eldöntése, hogy a konstitutív nitrát reduktáz, az asszimilatív vagy disszimilatív anyagcsere folyamatokkal milyen kapcsolatban van, további vizsgálatok feladata.  $O_2$  nélkül, terminális elektronakceptorként nitrátot tartalmazó táptalajon szaporított sejtek nitrát és nitrit redukcióját a 2. ábrán mutatjuk be. Almasavnak mint elektron donornak jelenlétében a nitrát az első 30 percen nitráttá alakul, és a 100. percig a nitrit redukciója is teljes egészében végbemegy. Kizárólag endogén elektrondonorok jelenlétében a folyamat lassabban bár, de végbemegy.

Ha a nitritet — mint elektronakceptort — önállóan adjuk a sejtuszpenzióhoz, ennek redukciója szintén gyorsan megtörténik. Kizárólag endogén elektrondonor jelenlétében a nitritredukció sebessége is lassúbb.

A 2. ábrán az anaerob nitráton előtenyésztett sejtek nitrátredukciós sajátságait, más elektrondonorként adott szubsztrátok eseteiben is feltüntet-



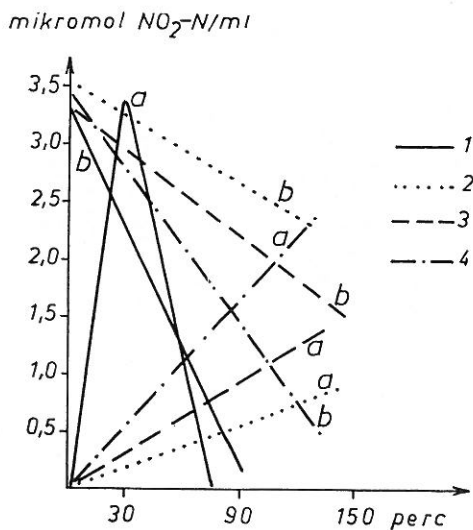
1. ábra

Aerob körülmények között (nitrát és nitrit nélkül) előtenyésztett sejtuszpenzió nitrátredukciója. 1. a) 10 mikromol almasav és 3,5 mikromol nitrát-nitrogén/ml. b) 10 mikromol almasav és 3,5 mikromol nitrit-nitrogén/ml. 2. a) Endogén elektrondonor és 3,5 mikromol nitrát-nitrogén/ml. b) Endogén elektrondonor és 3,5 mikromol nitrit-nitrogén/ml. Sejtsűrűség: 660 nm-en 1,20

jük. Az előtenyésztés során is használt almasav jelenlétében a legnagyobb a nitrát és nitrit redukció sebessége. Glükóz esetében alig magasabb az endogén elektrondonor hatására mért értéknél. Borostyánkősav esetében mért értékek mind a nitrát, mind pedig a nitrit redukcióra vonatkozóan az endogén elektrondonor és az előtenyésztésnél is használt almasav esetében mért értékek között helyezkednek el.

O<sub>2</sub> nélkül terminális elektronakceptorként nitritet tartalmazó táptalajon előtenyésztett sejtek nitrátredukciójára jellemző, hogy a nitrátot, nitritnek mint köztitermékek megjelenése nélkül, redukálja el gáznemű végtermékké. Nitritet mint egyedüli elektronakceptort tartalmazó sejtuszuspenzió nitrit redukcióját almasav jelenlétében a 3. ábrán mutatja be. A nitrit 90 perc után már nincs a sejt környezetében. Nitriten előtenyésztett sejtuszuspenzió esetén endogén elektrondonor hatásra nem tudtuk a nitrátredukciós sajátosságokat vizsgálni, mert az ilyen körülmények között termelődött sejt mennyiség rendkívül kevés.

A kísérletek eredményei alapján megállapítható, hogy a vizsgált organizmus nitritreduktáza indukált enzim. A nitriten előtenyésztett sejtekben nitrátreduktáz is működik, azonban intakt sejtekkel végrehajtott vizsgálatok alapján nem dönthető el, hogy a már aerob előtenyésztés esetében megismert konstitutív nitrátreduktáz működéséről van-e szó, vagy esetleg a nitrit jelenléte egyben egy másik nitrátreduktáz működését indukálja-e. A vizsgálati adatok alapján azonban bizonyos, hogy a két enzim együttműködése más, mint a nitráton előtenyésztett sejtek esetében, amelynél a nitritreduktáz működése nem indul meg addig, míg nitrát jelen van a környezetben.

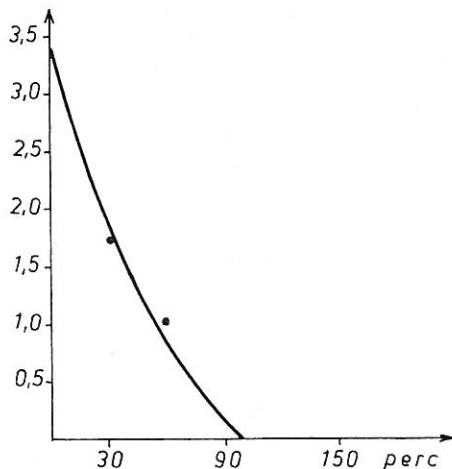


2. ábra

Anaerob körülmények között nitráton előtenyésztett sejtuszuspenzió nitrát és nitritredukciója. 1. a) 10 mikromol almasav és 3,5 mikromol nitrát-nitrogén. b) 10 mikromol almasav és 3,5 mikromol nitrit-N/ml. 2. a) Endogén elektrondonor és 3,5 mikromol nitrát-N/ml. b) Endogén elektrondonor és 3,5 mikromol nitrit-N/ml. 3. a) 10 mikromol glükóz és 3,5 mikromol nitrát-N/ml. b) 10 mikromol glükóz és 3,5 mikromol nitrit-N/ml. 4. a) 10 mikromol succinát és 3,5 mikromol nitrát-N/ml. b) 10 mikromol succinát és 3,5 mikromol nitrit-N/ml. Sejtsűrűség 660 nm-en: 1,1

A nitrát és nitrit redukció sajátosságait az előtenyésztés, tehát a sejt-szintéziskor fennálló körülmények befolyásolták a már kialakult sejt-tömeg nitrát és nitrit redukciós tulajdonságait, az aerob és anareob körülmények változása nem befolyásolta.

mikromol  $\text{NO}_2\text{-N/ml}$



3. ábra

Anaerob körülmények között nitriten előtenyésztett sejt-szuszpenzió nitrit redukciója.  
1. 10 mikromol almasav és 3,5 mikromol nitrit-N/ml. Sejtsűrűség 660 nm-en: 0,96

### Következtetések és összefoglalás

*Pseudomonas stutzeri* intakt sejtjeivel a nitrát és nitritreduktáz indukcióját, valamint a két enzim koordinált működését befolyásoló tényezőket vizsgáltuk.

Háromféle előtenyésztés után — melyeknél a terminális elektronakceptorok eltérőek voltak ( $\text{O}_2$ , nitrát és nitrit) — a sejt-szuszpenziók nitrát és nitrit redukciójának sebességét mértük, endogén, illetve külsőleg adott elektrondonorok jelenlétében.

A vizsgálatokból az alábbi következtetéseket vontuk le:

1. Eltérő tenyésztési körülmények hatására a nitrát és nitrit reduktáz koordinált működése megváltozik.
2. Aerob körülmények között nitrát nélküli táptalajban kialakult sejt-tömeg nitrátreduktázra képes, nitritreduktázra nem.
3. Terminális elektronakceptorként nitrátot tartalmazó táptalajban szaporított sejtek nitritreduktázja, csak a nitrát teljes felhasználása után indul meg.
4. Terminális elektronakceptorként nitritet tartalmazó táptalajban szaporított sejtek nitrát jelenlétében is redukálnak nitritet a két folyamat sebessége azonos, így a nitrát nitrit megjelenése nélkül alakul át gáznemű végtermékké.
5. A nitrátreduktáz konstitutív enzim a *Ps. stutzeri*-ben, a nitritreduktáz csak saját szubsztrátjának jelenlétében indukálódik.

## I r o d a l o m

- [1] COLE, J. A.: Cytochrome C<sub>552</sub> and nitrite reduction in *Escherichia coli*. *Biochim. Biophys. Acta* **162**, 356–358. 1968.
- [2] KLUYVER, A. F. & VERHOEVEN, W.: Studies on true dissimilatory nitrate reduction. *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol* **20**, 337. 1954.
- [3] LAM, Y. & NICHOLAS, D. J. D.: Aerobic and anaerobic respiration in *Micrococcus denitrificans*. *Biochim. Biophys. Acta* **172**, 450–561. 1969.
- [4] NASON, A.: Enzymatic pathways of nitrate, nitrite and hydroxylamine metabolisms. *Bact. Rev.* **26**, 16–37. 1962.
- [5] RADCLIFFE, B. C. & NICHOLAS, D. F. D.: Some properties of a nitrite reductase from *Pseudomonas denitrificans*. *Biochim. Biophys. Acta* **153**, 545–554. 1968.
- [6] TIMÁR, M.: Vizsgálatok denitrifikáló baktériumok endogén légzésével kapcsolatban. *Agrokémia és Talajtan.* **19**, 147–157. 1970.
- [7] WALKER, G. C. & NICHOLAS, D. F. D.: Nitrite reductase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochim. Biophys. Acta* **149**, 350–360. 1961.

Érkezett: 1972. március 8.

### Studies of the Denitrification Characteristics of the *Pseudomonas stutzeri*

É. TIMÁR

Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest

#### Summary

By the intact cells of the *Pseudomonas stutzeri* the nitrate and nitrite reductase induction as well as the factors affecting the coordinated activity of the two enzymes have been studied.

After three kinds of pre-incubation using different electron acceptors (O<sub>2</sub>, nitrate and nitrite) — the rate of the nitrate and nitrite reductions of the cell suspensions was measured in the presence of endogeneous and extraneously added electron donors.

From the above examinations the following conclusions have been drawn:

1. Under the effect of different cultivation circumstances the coordinated activity of nitrate and nitrite reductase changes.
2. The mass of cells developed under aerobic conditions in a culture medium without nitrate is able to nitrate reduction, but not to nitrite reduction.
3. The nitrite reduction of cells incubated in a culture medium containing nitrate as terminal electron acceptor can only start after the complete utilization of nitrate.
4. Cells incubated in a culture medium containing nitrite as terminal electron acceptor, reduced nitrite also in the presence of nitrate. The rate of the two processes is equal, thus the nitrate is transformed into a gaseous end product, without the appearance of nitrite.

5. The nitrate reductase enzyme was constitutive in the *Ps. stutzeri*, yet the nitrite reductase was induced only in the presence of its own substrate.

*Fig. 1.* Nitrate reduction of a cell suspension pre-incubated under aerobic conditions (without nitrate and nitrite). 1. *a*) 10 micromoles malic acid, and 3,5 micromoles nitrate-nitrogen/ml. *b*) 10 micromoles malic acid, and 3,5 micromoles nitrite-nitrogen. 2. *a*) Endogeneous electron donor and 3,5 micromoles nitrate-nitrogen/ml. *b*) Endogeneous electron donor and 3,5 micromoles nitrite-nitrogen/ml. Density of cells 660 nm 1,20.

*Fig. 2.* Nitrate and nitrite reduction of a cell suspension pre-incubated on nitrate, under anaerobic conditions. 1. *a*) 10 micromoles malic acid and 3,5 micromoles nitrate-nitrogen. *b*) 10 micromoles malic acid, and 3,5 micromoles nitrite-N/ml. 2. *a*) Endogeneous electron donor and 3,5 micromoles nitrate-N/ml. *b*) Endogeneous electron donor and 3,5 micromole nitrite-N/ml. 3. *a*) 10 micromoles glucose and 3,5 micromoles nitrate-N/ml. *b*)

10 micromoles glucose and 3,5 micromoles nitrite-N/ml. 4. a) 10 micromoles succinate and 3,5 micromole nitrate-N/ml. b) 10 micromole succinate and 3,5 micromole nitrite-N/ml. Cell density on 660 nm: 1, 1.

Fig. 3. Cell suspension pre-incubated on nitrite, under anaerobic conditions. 10 micromoles malic acid, and 3,5 micromoles nitrite-N/ml. Cell density on 660 nm: 0,96.

## Études des propriétés de *Pseudomonas stutzeri* influençant la dénitrification

É. TIMÁR

Institut de Recherches de Pédologie et de Chimie Agricole de l'Académie des Sciences de Hongrie, Budapest

### Résumé

Avec les cellules intactes de *Pseudomonas stutzeri* nous avons examiné l'induction de reductase de nitrate et nitrite ainsi que les facteurs influençant l'activité coordonnée de ces deux enzymes.

Après employant trois méthodes d'incubation pendant lesquelles les accepteurs d'électrons étaient différents ( $O_2$ , nitrate et nitrite), on a mesuré la vitesse de réduction de nitrate et nitrite par les suspensions cellulaires en présence des donneurs d'électrons endogènes et ceux donnés extérieurement.

A base des analyses ont pouvait tirer les conclusions suivantes:

1. Sous l'action de différentes conditions d'incubation, l'activité coordonnée de la reductase de nitrate et nitrite s'est changée.

2. Les cellules se formant dans les conditions aérobiques, sur des milieux sans nitrate, peuvent réduire le nitrate mais pas le nitrite.

3. La réduction de nitrite par les cellules incubées sur les milieux contenant du nitrate comme accepteur d'électrons terminal, ne commence qu'après l'utilisation complète du nitrate.

4. Les cellules incubées sur les milieux contenant du nitrite comme accepteur d'électrons terminal réduisent le nitrite aussi en présence du nitrate. Puisque ces deux procès s'effectuent avec la même vitesse, la transformation du nitrate en un produit final gazeux s'accomplit sans la présence du nitrate.

5. Chez le *Ps. stutzeri*, la réductase de nitrate est un enzyme constitutif et la réductase de nitrite ne s'induit qu'en présence de son substrat.

Fig. 1. Réduction de nitrate d'une suspension cellulaire incubée dans des conditions aérobiques (sans nitrate et nitrite). 1. a) 10  $\mu$ mole d'acide malique et 3,5  $\mu$ mole de N- $NO_3$ /ml. b) 10  $\mu$ mole d'acide malique et 3,5  $\mu$ mole de N- $NO_2$ /ml. 2. a) Donneur d'électrons endogène et 3,5  $\mu$ mole de N- $NO_3$ /ml. b) Donneur d'électrons endogène et 3,5  $\mu$ mole de N- $NO_2$ /ml. Densité cellulaire est 1,20 sur 660 nm.

Fig. 2. Réduction de nitrate et de nitrite des suspensions cellulaires incubées dans des conditions anaérobiques sur nitrate. 1. a) 10  $\mu$ mole d'acide malique et 3,5  $\mu$ mole de N- $NO_3$ /ml. b) 10  $\mu$ mole d'acide malique et 3,5  $\mu$ mole N- $NO_2$ /ml. 2. a) Donneur d'électrons endogène et 3,5  $\mu$ mole de N- $NO_3$ /ml. b) Donneur d'électrons endogène et 3,5  $\mu$ mole de N- $NO_2$ /ml. 3. a) 10  $\mu$ mole de glucose et 3,5  $\mu$ mole de N- $NO_3$ /ml. b) 10  $\mu$ mole de glucose et 3,5  $\mu$ mole de  $NO_2$ /ml. 4. a) 10  $\mu$ mole de succinate et 3,5  $\mu$ mole de N- $NO_3$ /ml. b) 10  $\mu$ mole de succinate et 3,5  $\mu$ mole de N- $NO_2$ /ml. Densité cellulaire est 1,1 sur 660 nm.

Fig. 3. Suspension cellulaire incubée sur nitrite dans des conditions anaérobiques. 1. a) 10  $\mu$ mole d'acide malique et 3,5  $\mu$ mole de N- $NO_3$ /ml. Densité cellulaire est 0,96 sur 660 nm.



## Исследования связанные с особенностями денитрификации *Pseudomonas stutzeri*

ТИМАР М-не

Научно-исследовательский институт почвоведения и агрохимии Академии Наук Венгрии, Будапешт

### Резюме

Используя невосприимчивые клетки *Pseudomonas stutzeri*, изучали индукцию нитратов и нитрит редуктаз, а также факторы, влияющие на координированное действие двух энзим.

После трех видов предварительного выращивания — где были различные терминальные электроакцепторы ( $O_2$ , нитрат и нитрит) — измеряли скорость редукции нитратов и нитритов клеточной суспензии в присутствии эндогенных или внешних электрон-доноров.

Полученные результаты позволили сделать следующие заключения:

1. Под влиянием различных условий выращивания изменяется координированное действие нитрат и нитрит редуктаз.

2. Клеточная масса, образованная в питательной среде без нитрата в аэробных условиях способна к редукции нитратов и не способна к редукции нитритов.

3. Нитритредукция клеток, выращенных в питательной среде содержащей нитрат в качестве терминального электроакцептора, начинается только после полного использования нитрата.

4. Клетки выращенные в питательной среде, содержащей нитрит в качестве терминального электроакцептора, редуцируют нитрит и в присутствии нитрата, скорость двух процессов одинакова, поэтому нитрат без появления нитрита переобразовывается в конечный газообразный продукт.

5. Нитрат редуктаза в *Pseudomonas stutzeri* является конститутивным энзимом, нитритредуктаза индуцируется только в присутствии собственного субстрата.

*Рис. 1.* Нитратредукция клеточной суспензии клеток, предварительно выращенных в аэробных условиях (без нитрата и нитрита). 1. а) 10 микромоль яблочной кислоты и 3,5 микромоль нитрат-азота/мл. б) 10 микромоль яблочной кислоты и 3,5 микромоль нитрит-азота/мл. 2. а) Эндогенный электрондонор и 3,5 микромоль нитрат-азота/мл. б) Эндогенный электрондонор и 3,5 микромоль нитрит-азота/мл. Плотность клеток 660 nm: 1,20.

*Рис. 2.* Нитрат и нитритредукция суспензии, клеток, выращенных на нитрате в анаэробных условиях. 1. а) 10 микромоль яблочной кислоты и 3,5 микромоль нитрат-азота. б) 10 микромоль яблочной кислоты и 3,5 микромоль нитрит-азота/мл. 2. а) Эндогенный электрондонор и 3,5 микромоль нитрат-азота/мл. б) Эндогенный электрондонор и 3,5 микромоль нитрит-азота/мл. 3. а) 10 микромоль глюкозы и 3,5 микромоль нитрат-азота/мл. б) 10 микромоль сукцината и 3,5 микромоль нитрат-азота/мл. б) 10 микромоль сукцината и 3,5 микромоль нитрит-азота/мл. Плотность клеток в 660 nm: 1,1.

*Рис. 3.* Суспензия клеток, выращенных на нитрите в анаэробных условиях. 1. а) 10 микромоль яблочной кислоты и 3,5 микромоль нитрит-азота (мл. Плотность клеток в 660 nm: 0,96.