

МИКРОБИОЛОГИЯ

В. М. ЖДАНОВ

**КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ДИНАМИКИ
РАЗМНОЖЕНИЯ БАКТЕРИЙ В ЛОГАРИФМИЧЕСКОЙ ФАЗЕ**

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 20 III 1947)

Изучение роста бактерий в питательных средах показало, что в логарифмической фазе размножение происходит в геометрической прогрессии и может быть выражено формулой

$$N = N_0 e^{kt}, \quad (1)$$

где N_0 — исходное число клеток, N — число их, соответствующее моменту времени t , k — константа роста.

В настоящей работе сделана попытка расшифровать значение параметра k , который, несомненно, является сложной величиной и состоит из нескольких компонентов.

Логарифмическая фаза размножения бактерий характеризуется неограниченным ростом при отсутствии торможения. В дальнейших рассуждениях мы допускаем, что отмирания бактерий не происходит и среда заметно не истощается. Если поместить некоторое число бактерий в питательную среду, состоящую из одного питательного вещества, необходимого и достаточного для их развития, то прирост массы микробных тел dM будет пропорционален количеству израсходованного питательного вещества dC , т. е.

$$dM = a dC, \quad (2)$$

где a — коэффициент пропорциональности. Но

$$dM = m dN, \quad (3)$$

где m — средняя масса одной микробной клетки, dN — прирост числа микробных тел. С другой стороны, расход питательного вещества пропорционален поверхности всасывания $S = Ns$ и времени dt :

$$dC = pNs dt, \quad (4)$$

где s — средняя поверхность одной микробной клетки, p — коэффициент пропорциональности. Подставляя выражения dM и dC из (3) и (4) в формулу (2), получим уравнение

$$mdN = apNs dt, \quad (5)$$

которое после деления переменных и интегрирования имеет решение

$$N = N_0 e^{\sigma pt}, \quad (6)$$

где $\sigma = s/m$. Это и есть уравнение динамики размножения бактерий в логарифмической фазе. В отличие от формулы (1), в нем вместо

эмпирического параметра k фигурирует произведение трех, выведенных теоретическим путем, величин a , p и σ . Нетрудно видеть, что a является коэффициентом ассимиляции питательного вещества микробной клетки, p — скоростью всасывания и σ — средней удельной поверхностью данного микробного вида в данных условиях роста. Если среда содержит несколько питательных веществ, то формула (6) примет вид

$$N = N_0 e^{(a_1 p_1 + a_2 p_2 + \dots) \sigma t} \quad (7)$$

Интересно более подробно остановиться на некоторых особенностях параметров a и p в логарифмической фазе.

Логарифмическая фаза размножения бактерий соответствует наибольшей активности бактериальной популяции, так как только в этой фазе все, или почти все, микробы растут и размножаются, тогда как

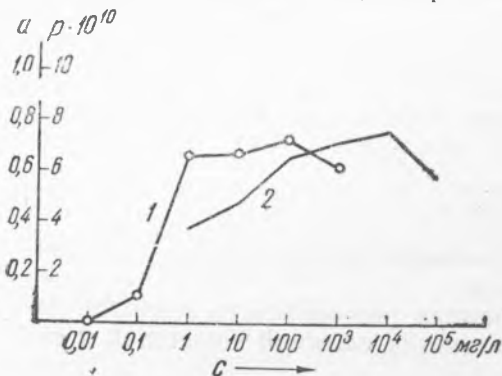


Рис. 1. Зависимость коэффициента ассимиляции (1) и скорости всасывания (2) от концентрации аспарагина. Рост микрококка при 25° С

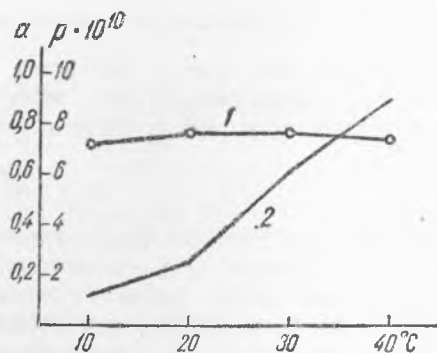


Рис. 2. Зависимость коэффициента ассимиляции (1) и скорости всасывания (2) от температуры. Концентрация аспарагина 100 мг/л

В других фазах часть клеток постепенно переходит в недействительное состояние и отмирает. Поэтому следует ожидать, что в логарифмической фазе коэффициент ассимиляции и скорость всасывания будут иметь величины, максимальные по сравнению с другими фазами, и при неизменных условиях роста будут оставаться постоянными на протяжении логарифмической фазы.

При рассмотрении зависимости параметров a и p от концентрации питательного вещества и температуры изменение их должно происходить существенно различным образом. При очень низкой концентрации питательного вещества прироста массы микробных тел не происходит, и коэффициент ассимиляции равен нулю. С ростом концентрации при некотором ее значении величина a становится больше нуля и затем возрастает, достигая максимума. Дальнейшее увеличение концентрации питательного вещества не должно приводить к увеличению коэффициента ассимиляции (рис. 1). Что же касается температуры, то ее изменение не нарушает заметным образом отношения энергетического коэффициента к коэффициенту ассимиляции, характеризующего адаптацию данного микробного вида к определенному питательному веществу (рис. 2). Поэтому коэффициент ассимиляции должен мало зависеть от температуры в пределах оптимума для данного вида микроба.

Иначе обстоит дело со скоростью всасывания. Она не равна нулю и даже при весьма низких концентрациях питательного вещества возрастает более плавно с ростом концентрации и достигает максимума лишь при сравнительно высоких концентрациях питательного веще-

ства. Скорость всасывания заметно увеличивается с повышением температуры и, таким образом, определяет собою температурный коэффициент роста микробов.

Изложенные соображения были подвергнуты экспериментальной проверке. В качестве опытной модели изучался рост *Micrococcus candidans* на среде, состоящей из аминокислоты (аспарагин или гликоколл) и солей, а также растворенного кислорода. В этой среде источником энергии являлась только аминокислота, а потребление воды и солей можно было определить по содержанию их в протоплазме микробных тел. Коэффициент ассимиляции определялся из формулы (2), а скорость всасывания из формулы (6). Для нахождения этих величин предварительно были определены средняя масса микробных клеток, удельная поверхность, содержание влаги, сухой и солевой остаток и содержание белков. Подсчет числа микробных тел производился в камере и по Коху. Потребление аминокислоты определялось по модифицированному микрометоду Серенсена, а для более тонких повторных измерений на протяжении логарифмической фазы—более чувствительным косвенным методом, путем измерения потребления кислорода по Винклеру. Контролем служили флаконы со стерильной питательной средой. Оба метода дали совпадающие результаты.

Поставленные опыты подтвердили правильность высказанных положений. Коэффициент ассимиляции при концентрации аспарагина и гликоколла в среде 0,1% и температуре 30°С колебался в логарифмической фазе в пределах 0,7—0,8, а в последующих фазах падал до 0,15—0,20. Ввиду сходных результатов, полученных с обеими аминокислотами, дальнейшие опыты ставились только с аспарагином. Изучение зависимости величины коэффициента ассимиляции от концентрации аспарагина дало следующие результаты: при содержании аспарагина в среде 0,01 мг/л коэффициент ассимиляции оказался равным нулю; при содержании аспарагина 0,1—1 мг/л коэффициент ассимиляции был соответственно равен 0,1—0,7; при дальнейшем увеличении содержания аспарагина до 10—1000 мг/л коэффициент ассимиляции не превышал предельного значения 0,7—0,8. Изменение температуры выращивания от 10 до 40° не влияло на величину коэффициента ассимиляции, которая при содержании аспарагина 100 мг/л колебалась в пределах 0,7—0,8.

Измерения скорости всасывания дали следующие результаты. При выращивании микрококка в среде с 1% аминокислотой при 25°С скорость всасывания на протяжении логарифмической фазы равнялась $3,5—4,0 \cdot 10^{-10}$ г/см² сек. и резко уменьшалась в последующих фазах при пересчете на общее число микробных клеток. При температуре 30°С с увеличением концентрации аспарагина от 1 мг/л до 10 г/л скорость всасывания возрастала от $3,9 \cdot 10^{-10}$ до $8,0 \cdot 10^{-10}$ г/м² сек. и лишь при концентрации аспарагина 100 г/л падала до $6,2 \cdot 10^{-10}$ г/см² сек. В среде с содержанием аспарагина 100 мг/л при изменении температуры от 10 до 40° скорость всасывания возрастала от $1,2 \cdot 10^{-10}$ до $9,3 \cdot 10^{-10}$ г/см² сек.

Результаты изучения зависимости коэффициента ассимиляции и скорости всасывания от концентрации питательного вещества и температуры графически представлены на рис. 1 и 2. Таким образом, поставленные опыты подтвердили правильность высказанных выше теоретических положений. Это относится как к формуле (6) динамики размножения бактерий в логарифмической фазе, так и к дальнейшим выводам о свойствах параметров a и p .

Предлагаемая теория, однако, не исчерпывает полностью закономерности динамики размножения бактерий в логарифмической фазе.

Поэтому представляет интерес дальнейшее развитие этой теории на основе найденных закономерностей, а также приложение ее к другим фазам размножения бактерий.

Приложение

Согласование теории динамики популяций с теорией роста отдельных клеток

Прирост массы микробной клетки

$$dm = dC - dC_{13} \quad (1)$$

где dC — количество всосавшегося питательного вещества, dC_1 — количество распавшегося питательного вещества. Но

$$dC = ps \, dt, \quad (*)$$

где p — скорость всасывания, s — поверхность клетки, t — время, и

$$dC_1 = \delta m \, dt, \quad (**)$$

где δ — скорость распада, откуда

$$dm/dt = ps - \delta m \quad (2)$$

или

$$\frac{dm}{m \, dt} = p \frac{s}{m} - \delta = p\sigma - \delta, \quad (2a)$$

где $\sigma = s/m$ — удельная поверхность.

Но для популяции в логарифмической фазе (как доказано экспериментально) $\sigma = \text{const}$, $p = \text{const}$, $\delta = \text{const}$, что, впрочем, следует из

$$\frac{dM}{M \, dt} = \frac{d \lg M}{dt} = \text{const}, \quad M = M_0 e^{ct}.$$

Подставляя в (2a) значения $p\sigma$ и δ из (*) и (**), получим:

$$\frac{dM}{M \, dt} = \frac{dC}{M \, dt} - \frac{dC'}{M \, dt}$$

или

$$dM = dC \left(1 - \frac{dC'}{dC} \right). \quad (3)$$

Но так как $\frac{dC'}{dC}$ есть доля вещества, идущего на энергетический обмен, а $1 - \frac{dC'}{dC}$ — доля вещества, идущего на прирост массы, то

$$1 - \frac{dC'}{dC} = a,$$

где a — коэффициент ассимиляции, и таким образом:

$$dM = a \, dC. \quad (4)$$

Таким образом, для динамики прироста массы популяции возможно введение усредненного коэффициента ассимиляции (в логарифмической фазе), тогда как при изучении роста отдельной клетки этого сделать нельзя, ибо в течение роста этой клетки величины p , σ и δ непрерывно меняются.