

МИКРОБИОЛОГИЯ

И. С. СКАЛОН

ОТНОШЕНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ К УГЛЕКИСЛОТЕ

(Представлено академиком Л. А. Орбели 8 V 1947)

Вопрос о потребности гетеротрофных микроорганизмов в углекислоте все больше привлекает внимание исследователей (1-5). Интересующий нас вопрос мало изучен в отношении молочнокислых бактерий. Занимаясь изучением физиологии молочнокислых бактерий, мы поставили себе задачей исследовать отношение к углекислоте различных представителей этой группы бактерий. При этом мы обращали особое внимание на динамику размножения и кислотообразования. Отметим, что с этой точки зрения данный вопрос прежними исследователями не изучался.

Нам кажется, что результаты, полученные таким путем, должны позволить резче выявить и более ясно представить картину интересующего нас явления. Последующие исследования в этом направлении дадут возможность ближе подойти к выяснению механизма действия  $\text{CO}_2$  на рост и развитие гетеротрофных микроорганизмов.

Объектом нашего исследования служили молочнокислые бактерии, выделенные нами совместно с другими (6) в 1935 г. из ржаных заквасок хлебозаводов Ленинграда и хлебопекарен области. Культуры некоторых подвергнутых исследованию бактерий (*Streptobacterium plantarum* штамм 6 и *Betabacterium* штаммы 8 и 27) применяются в качестве заквасок при приготовлении хлеба на хлебозаводах Ленинграда с 1937 г. по настоящее время. Всего нами были исследованы *Streptobacterium plantarum* 2 штамма и *Betabacterium* 4 штамма. Опыты проводились на пивном сусле 11,5° Баллинга с продуванием обычного воздуха и воздуха, лишенного  $\text{CO}_2$ . Кроме того, исследовался контроль без продувания воздуха. Параллельно ставились опыты на сусло-агаре в чашках Петри с поглотителем  $\text{CO}_2$ , помещавшимся непосредственно в чашки Петри или в эксикатор. Скорость размножения учитывали методом высева на чашки; pH определяли электрометрическим методом с хингидрон-каломельным электродом.

Полученные данные показывают (табл. 1), что все подвергнутые исследованию бактерии, несмотря на богатую углеводами среду, в которой они выращивались, нуждаются в  $\text{CO}_2$  воздуха. Оказалось, что потребность в  $\text{CO}_2$  воздуха особенно резко сказывается в первоначальный период развития бактерий.

Рассматривая данные, мы видим, что по истечении 24 час. число клеток в среде с продуванием воздуха без  $\text{CO}_2$  составляет 2,5% у *Streptobacterium plantarum* 6, 1,4% у *Betabacterium* 27 и 11% у *Betabacterium* 50 по отношению к числу клеток с продуванием обычного воздуха. При дальнейшем росте в средах без продувания и с продуванием обычного воздуха максимальное размножение наблюдается через 48 час., в среде же с продуванием воздуха, лишен-

Динамика размножения молочнокислых бактерий  
(процент указан по отношению к результатам, полученным с продуванием  
обычного воздуха)

Бактерии	Условия опыта	Начальн. число клеток в 1 мл среды	24 час.		48 час.		72 час.		144 час.
			число клеток в 1 мл среды в млн.	%	число клеток в 1 мл среды в млн.	%	число клеток в 1 мл среды в млн.	%	число клеток в 1 мл среды в млн.
<i>Streptobacterium plantarum</i> 6	Без продувания . . . .	1280	17,2	302	549	183	223	250	76
	Продув. обычн. воздуха	1280	5,7	100	300	100	89	100	1,4
	Продув. воздуха без CO <sub>2</sub>	1280	0,142	2,5	79	26,3	79	88,7	1,6
<i>Betabacterium</i> 27	Без продувания . . . .	1924	14,4	306	791	134	381	69,4	44
	Продув. обычн. воздуха	1924	4,7	100	587	100	549	100	0,12
	Продув. воздуха без CO <sub>2</sub>	1924	0,063	1,4	123	21	436	79,4	0,3
<i>Betabacterium</i> 8	Без продувания . . . .	1480	—	—	503	139	412	119	—
	Продув. обычн. воздуха	1480	—	—	363	100	347	100	0,007
	Продув. воздуха без CO <sub>2</sub>	1480	—	—	7,6	2,1	289	83,3	1,137
<i>Betabacterium</i> 50	Без продувания . . . .	7500	7,4	224	—	—	—	—	—
	Продув. обычн. воздуха	7500	3,3	100	—	—	—	—	—
	Продув. воздуха без CO <sub>2</sub>	7500	0,37	11	—	—	—	—	—

Таблица 2

Динамика кислотообразования на пивном сусле 11,5° Баллинга  
(кислотность выражена в мл N/10 КОН на 100 мл среды с вычетом начальной кис-  
лотности среды; процент показан к результатам, полученным с продуванием  
обычного воздуха)

Бактерии	Условия опыта	24 час.		48 час.		72 час.		96 час.		144 час.	
		кислоты	%	кислоты	%	кислоты	%	кислоты	%	кислоты	%
<i>Betabacterium</i> 8	Без продувания . . . .	5	—	40,0	133	52,5	105	60,0	104	70,0	116
	Продув. обычн. воздуха	0	—	30,0	100	50	100	57,5	100	61,0	100
	Продув. воздуха без CO <sub>2</sub>	0	—	12,5	41,7	42,5	85	55,0	96	60,0	100
<i>Betabacterium</i> 27	Без продувания . . . .	10	143	30	200	42,5	170	—	—	55	137
	Продув. обычн. воздуха	7	100	15	100	25	100	—	—	40	100
	Продув. воздуха без CO <sub>2</sub>	0	0	5	33,3	20	80	—	—	45	112
<i>Streptobacterium plantarum</i> 6	Без продувания . . . .	5	200	52,5	128	62,5	119	—	—	92,5	148
	Продув. обычн. воздуха	2,5	100	42,5	100	52,5	100	—	—	62,5	100
	Продув. воздуха без CO <sub>2</sub>	2,5	100	25	58,8	42,5	80	—	—	60	96

ного CO<sub>2</sub>, максимум размножения достигается через 72 часа. Однако дело не только в том, что достижение максимума развития бактерий в условиях отсутствия CO<sub>2</sub> запаздывает на целые сутки. Выявлено более существенное различие, которое состоит в том, что в отсутствие CO<sub>2</sub> в среде максимальное число клеток в среде остается значительно меньшим, чем в средах, содержащих CO<sub>2</sub>.

Следует также указать и на внешние отличия роста культур. В пробирках без CO<sub>2</sub> среда в течение первых суток остается про-

зрачной, на вторые сутки появляется слабая муть, медленно усиливающаяся. В пробирках с  $\text{CO}_2$  появляется уже в течение первых суток быстро усиливающаяся муть. Если судить по мути, то рост на вторые сутки сравнивался с ростом бактерий в пробирках без продувания воздуха. Видимое уравнивание роста в пробирках без углекислоты и с углекислотой можно было наблюдать сутками позже, хотя, как мы уже говорили, число клеток в пробирках было различно.

Кроме учета скорости размножения бактерий, мы также учитывали кислотообразование в культурах. Полученные результаты (табл. 2) позволяют отметить, что там, где наблюдается медленное накопление бактериальной м. ссы, кислотообразование было меньшим. В зависимости от максимального числа бактерий в среде и от скорости их отмирания находилось образование максимального количества кислоты.

Существует точка зрения (<sup>7</sup>), согласно которой благоприятное действие  $\text{CO}_2$  на бактерии объясняется установлением нужного рН среды во время роста бактерий. Наблюдая изменения рН суслу в развивающихся культурах молочнокислых бактерий, мы могли убедиться в том, что изменения рН суслу одинаковы как в условиях продувания обычного воздуха, содержащего  $\text{CO}_2$ , и воздуха, лишённого  $\text{CO}_2$ , так и при условии отсутствия продувания (рис. 1). Следует отметить, что параллельные опыты в пробирках без продувания нами ставились,

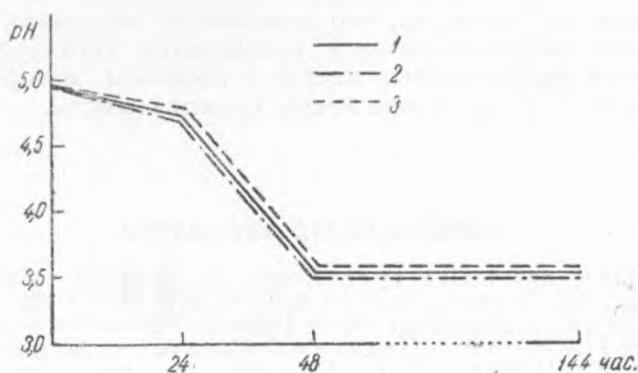


Рис. 1. Изменение рН суслу в развивающейся культуре *Streptobacterium plantarum* 6. 1 — без продувания, 2 — продувание обычного воздуха, 3 — продувание воздуха без  $\text{CO}_2$

как правило, каждый раз, и они служили нам дополнительным контролем, с помощью которого мы всегда могли судить о влиянии самого продувания, т. е. усиленной аэрации среды, на жизнедеятельность молочнокислых бактерий.

Как существенный раздел наших исследований следует рассматривать также опыты по выяснению отношения подвергавшихся изучению бактерий к  $\text{CO}_2$  воздуха при выращивании их на плотной среде (сусло-агаре). При постановке этих опытов засеянные нами чашки делились на три партии: одна партия чашек помещалась в эксикатор с 17% раствором КОН, в другой партии щелочь на часовых стеклах помещалась внутрь чашек, а третья партия была контрольной. После выдерживания чашек в термостате в течение 3—4 суток сосчитывались выросшие колонии.

Результаты этих опытов (табл. 3) показывают, что на плотной среде в отсутствие  $\text{CO}_2$  развитие бактерий в значительной мере задерживается. На не испытывавшихся в опытах с жидким суслем штаммах *Betabacterium* 23 и *Streptobacterium* 47 на сусло-агаре таким путем также была обнаружена потребность в  $\text{CO}_2$ .

Рост бактерий на сусло-агаре при наличии  $\text{CO}_2$  воздуха и без  $\text{CO}_2$  (процент указан по отношению к контролю)

Бактерии	Чашки Петри контрольные	Чашки Петри в аксикаторе с КОН		КОН внутри чашек Петри	
	число колоний	число колоний	%	число колоний	%
<i>Betabacterium</i> 23 . .	401	135	33,7	151	37,7
<i>Betabacterium</i> 8 . .	2070	1110	53,6	800	38,6
<i>Streptobacterium plantarum</i> 6 . . . .	2590	362	21,7	—	—
То же 47 . . . . .	235	129	54,9	—	—

Полученные нами результаты показывают, что подвергавшиеся исследованию молочнокислые бактерии нуждаются в углекислоте воздуха главным образом в начальный период размножения, когда бактериальное население культуры не так многочисленно; из этих результатов также следует, что наличие такой богатой углеводами среды, как пивное сусло, не снимает потребности бактерий в углекислоте. Есть основание предполагать, что возможность выявления потребности гетеротрофного микроорганизма в углекислоте находится в зависимости от числа бактериальных клеток в посевном материале. В этом направлении нами в настоящее время ставятся опыты.

Поступило  
8 V 1947

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> G. Valley and L. Rettger, J. Bact., 5, 14 (1927). <sup>2</sup> H. A. Barker, S. Ruben and M. D. Kamen, Proc. Nat. Acad. Sci., 5, 26, 5426 (1940). <sup>3</sup> H. G. Wood and C. H. Werkman, Biochem. J., 5, 34, 1 (1940). <sup>4</sup> Т. В. Аристовская, Усп. совр. биол., 17, в. 1 (1944). <sup>5</sup> Г. Л. Селибер, Природа, № 5—6 (1942). <sup>6</sup> М. Н. Тульчинский, З. И. Шмидт и И. С. Скалон, Тр. Центр. лабор. I Лен. гос. треста хлебопекарной промышленности, в. 3 (1938). <sup>7</sup> L. Gates, Frederick, J. exp. Med., 29 (1919).