

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 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 CO_2 . Кроме того, исследовался контроль без продувания воздуха. Параллельно ставились опыты на сусло-агаре в чашках Петри с поглотителем CO_2 , помещавшимся непосредственно в чашки Петри или в эксикатор. Скорость размножения учитывали методом посева 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 CO_2 воздуха. Оказалось, что потребность в 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 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 ₂ | 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 ₂ | 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 ₂ | 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 ₂ | 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 ₂ | 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 ₂ | 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 ₂ | 2,5 | 100 | 25 | 58,8 | 42,5 | 80 | — | — | 60 | 96 |

ного CO₂, максимум размножения достигается через 72 часа. Однако дело не только в том, что достижение максимума развития бактерий в условиях отсутствия CO₂ запаздывает на целые сутки. Выявлено более существенное различие, которое состоит в том, что в отсутствие CO₂ в среде максимальное число клеток в среде остается значительно меньшим, чем в средах, содержащих CO₂.

Следует также указать и на внешние отличия роста культур. В пробирках без CO₂ среда в течение первых суток остается про-

зрачной, на вторые сутки появляется слабая муть, медленно усиливающаяся. В пробирках с 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 (⁷), согласно которой благоприятное действие 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 CO_2 , и воздуха, лишённого CO_2 , так и при условии отсутствия продувания (рис. 1). Следует отметить, что параллельные опыты в пробирках без продувания нами ставились,

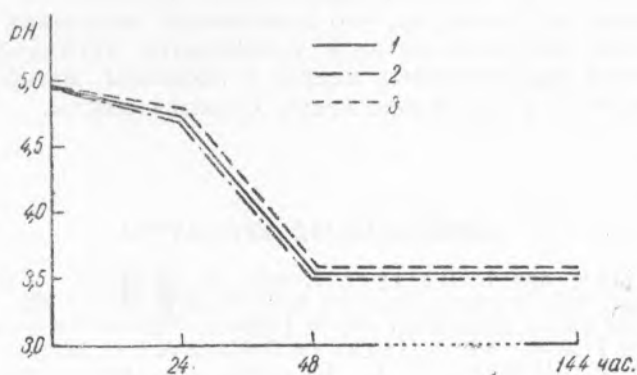


Рис. 1. Изменение рН суслу в развивающейся культуре *Streptobacterium plantarum* 6. 1 — без продувания, 2 — продувание обычного воздуха, 3 — продувание воздуха без CO_2

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 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 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 CO_2 .

Рост бактерий на сусло-агаре при наличии CO_2 воздуха и без 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

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