

МИКРОБИОЛОГИЯ

Член-корреспондент АН СССР А. ИМШЕНЕЦКИЙ и К. ПЕРОВА

**ОБРАЗОВАНИЕ АМИЛАЗЫ СКЛАДЧАТЫМИ РАСАМИ
ASPERGILLUS NIGER**

Исследования в области изменчивости микроорганизмов длительное время носили преимущественно теоретический и притом описательный характер. По мере расширения области практического применения микроорганизмов постепенно, наряду с разработкой вопросов изменчивости микробов, стали вестись работы и по их селекции. Судя по литературным данным, применение экспериментально полученных рас гриба *Penicillium* позволило значительно интенсифицировать биосинтез пенициллина.

В связи с этим стала очевидной необходимость поисков более активных рас микробов у видов, нашедших практическое применение. В последние годы значительное внимание уделяется различным видам *Aspergillus*, образующим амилазу, пектиназу, протеазу и другие ферменты. В связи с этим мы поставили перед собой задачу получить экспериментально более активные, в смысле образования амилазы, расы *Aspergillus*.

В ранее проведенных нами исследованиях было установлено, что изолированное изменение одного только свойства, как это утверждают иностранные генетики, занимающиеся исследованиями в области биохимической генетики, невозможно. Изменение обмена веществ неизбежно влечет за собой изменение всего типа развития микроорганизма, т. е. его морфологии, характера роста и т. п.

В одних случаях такая связь между морфологической и физиологической изменчивостью устанавливается легко, в других же, вследствие несовершенства наших методов изучения морфологии, обнаруживается с трудом. Естественно, что существование морфологических признаков, облегчающих отбор рас микробов с ценными свойствами, представляет несомненный интерес. Экспериментатор в этом случае получает надежный критерий, позволяющий ему селекционировать нужную и практически ценную культуру.

В связи с этим было произведено сравнительное изучение амилолитической активности у трех культур *Aspergillus niger*. В качестве исходной культуры был взят штамм *A. niger*, образующий большие, гладкие, быстро покрывающиеся налетом черных конидий колонии. От этой исходной формы была получена складчатая раса, обозначаемая в дальнейшем как раса АН₅. Она давала колонии сильно складчатые и меньших размеров, чем у исходной культуры. Особенно обращало на себя внимание запаздывание в образовании конидий, поэтому поверхность колонии была желтоватого цвета, и только старые колонии становились черными. Помимо этого, данная раса отличалась от исходной по целому ряду микроскопических признаков.

Обе расы выращивались в колбах Эрленмейера емкостью в 200 мл, содержащих 25 мл пивного сусла (7° Балл) с 1% нерастворимого крахмала.



Рис. 1. Активность амилазы, содержащейся в пленке исходной культуры *Aspergillus niger* (а) и расы AN₃ (б)

С целью получить представление о динамике накопления амилазы определение амилазной активности производилось на 2-й, 3-й, 4-й и 6-й день.

Для этого выросшая пленка гриба извлекалась из колбы, тщательно растиралась с 15 мл воды и встряхивалась. Полученная жидкость фильтровалась через бумажный фильтр и 1 мл фильтрата добавлялся к 9 мл 2% нерастворимого

крахмала. После 10-минутного выдерживания при 40° с помощью вискозиметра определялась вязкость крахмала. Результаты этих исследований приведены в табл. 1 и на рис. 1.

Таблица 1

Амилолитическая активность гладкой и складчатой рас *Aspergillus niger* (время истечения крахмала)

№ опытов	Возраст пленки в днях							
	2		3		4		6	
	исходная	AN ₃	исходная	AN ₃	исходная	AN ₃	исходная	AN ₃
1	4 м. 5 с.	2 м. 36 с.	3 м. 40 с.	2 м. 00 с.	4 м. 30 с.	3 м. 15 с.	4 м. 36 с.	3 м. 40 с.
2	3 м. 30 с.	2 м. 50 с.	3 м. 15 с.	2 м. 15 с.	4 м. 20 с.	3 м. 20 с.	3 м. 16 с.	2 м. 33 с.
3	3 м. 20 с.	3 м. 24 с.	5 м. 32 с.	3 м. 50 с.	5 м. 32 с.	4 м. 17 с.	5 м. 53 с.	4 м. 26 с.
Средн.	3 м. 39 с.	2 м. 56 с.	3 м. 59 с.	2 м. 22 с.	4 м. 50 с.	3 м. 37 с.	4 м. 35 с.	3 м. 33 с.

Мы видим, что во всех опытах амилаза складчатой расы *Aspergillus niger* более активна, чем гладкой, исходной культуры. Эта разница выражена резко на 3-й день, т. е. в молодой культуре. Затем было произведено определение веса урожая мицелия в культурах различного возраста гладкой и складчатой рас *A. niger*.

Результаты этих опытов приведены в табл. 2, а также на графике рис. 2.

Данные табл. 2 убеждают в том, что вес сухой пленки складчатой расы аспергилла выше, чем гладкой. Такое расхождение становится особенно заметным в более старых, 6-дневных культурах.

Эти данные не позволяют объяснить большую амилолитическую активность складчатой расы ее более высокой урожайностью, так как разница в активности амилазы особенно резко выражена на 3-й день,

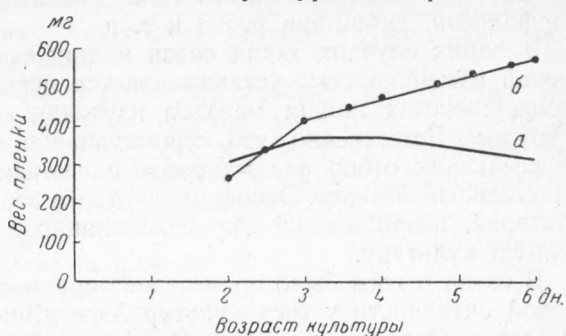


Рис. 2. Вес пленки гладкой (а) и складчатой (б) рас *Aspergillus niger*

Сухой вес пленки исходной культуры *Aspergillus niger* и расы АН₅ (в г)

№№ счетов	Исходная					АН ₅				
	Возраст пленки в днях									
	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6
1	0,3458	0,5417	0,5406	—	0,4651	0,3341	0,5653	0,5976	—	0,6514
2	0,3282	0,3268	0,3446	—	0,2813	0,2561	0,3552	0,4919	—	0,5910
3	0,2429	0,2477	0,2423	—	0,2088	0,2041	0,3172	0,3300	—	0,4823
Средн.	0,3056	0,3721	0,3758	—	0,3184	0,2647	0,4125	0,4731	—	0,5749

когда сухой вес пленок обеих рас еще почти одинаков. Более того, амилаза складчатой расы активнее уже на вторые сутки, т. е. тогда, когда вес ее пленки даже несколько ниже, чем у гладкой.

Таким образом, мы вправе говорить о более высокой активности амилазы у складчатой формы аспергилла. Однако накопление на 6-й день почти в два раза большей биомассы в культуре складчатой расы (см. рис. 2) представляет интерес, так как эти данные позволяют считать складчатую форму за расу, обладающую способностью в данных условиях синтезировать белки более интенсивно, чем исходная культура. Она с полным правом может быть названа высокоурожайной расой.

Приведенный экспериментальный материал позволяет сделать следующие выводы.

1. Экспериментально полученная складчатая раса *Aspergillus niger* обладала более высокой амилолитической активностью, чем исходная гладкая культура.

2. Складчатая раса образует в более старых культурах больше биомассы, чем гладкая.

3. Изменение формы колонии у *Aspergillus niger* связано с изменением обмена веществ, что подтверждает существование закономерной связи между морфологической и физиологической изменчивостью.

Институт микробиологии
Академии наук СССР

Поступило
9 X 1951