

М. А. ТЕР-КАРАПЕТЯН и Ш. А. АВАКЯН

## ВЛИЯНИЕ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА ВЕЛИЧИНУ ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТОК, РАЗМНОЖАЮЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ АЭРОБНОГО ОБМЕНА

(Представлено академиком А. И. Опариным 5 IV 1952)

Условия производственного процесса выращивания дрожжей, направленного по пути получения максимальной дрожжевой массы, значительно отличаются от естественных условий жизнедеятельности этих микроорганизмов. Для условий производства характерно постепенное накопление в жидкой среде нарастающих количеств дрожжевой массы, сопровождающееся постепенным уменьшением, до исчезновения, питательных веществ в среде. Такие глубокие изменения взаимоотношений микроорганизмов со средой вызывают и глубокие изменения морфологических и физиологических свойств дрожжей.

Целью настоящей работы было изучение изменения размеров дрожжевых клеток при условиях периодического и непрерывного выращивания и объяснение роли некоторых факторов, вызывающих эти изменения.

Объектом исследования служил штамм кормовых дрожжей из рода *Togulopsis* (1); пересев для опыта делался из 20-часовой культуры в конце логарифмической фазы. Среда: синтетическая с глюкозой 1%  $\pm$   $\pm$  0,1% (опыты с другими средами — сусло, гидролизаты хлопковой шелухи и соломы — не приведены в этой работе).

К среде было добавлено  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$  и экстракт солодовых ростков в достаточном для максимального роста культуры количестве (2, 3). Перемешивание и аэрация культуры производились взбалтыванием или применением инокулятора с пропеллером (4). Температура:  $34 \pm 1^\circ$ . Величина рН контролировалась в пределах 4—5.

Результаты экспериментов учитывались следующим образом: определение сахаров производилось методом феррицианида; число клеток подсчитывалось в камере Горяева; объем клеток: а) центрифугированием (5) в микропробирках с делением 0,01 мл, б) измерением под микроскопом и вычислением по формулам шара, эллипсоида или цилиндра. Предварительные опыты показали, что в хорошо рассеянных суспензиях измерение размеров 50 клеток достаточно отражает картину всей культуры, где объем большинства клеток находится в пределах 100—200  $\mu^3$ , а крайние значения колеблются от 12 до 350  $\mu^3$ .

Изменение объемов клеток в условиях истощения питательных веществ среды. Опыты ставились в инокуляторе с пропеллером на 3—5 л среды. Полученные результаты приведены на рис. 1.

Изменение объема клеток при различном количестве их в среде. Уменьшенные клетки в конце одного предварительного цикла были засеяны в свежую среду из расчета 100 и 1000 млн. в 1 мл. Результаты этого опыта приведены в табл. 1.

Изменение объема клеток при различных концентрациях питательных веществ. В конце роста культуры дрожжи были засеяны в среду с различной концентрацией глюкозы (0,1; 0,2; 1; 5; 10%).

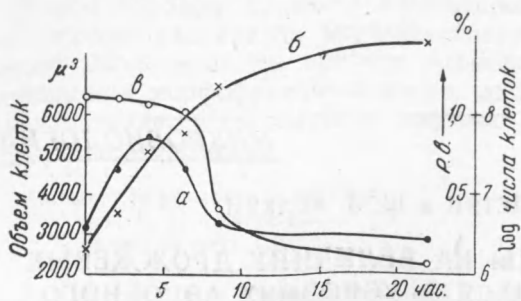


Рис. 1. Изменения числа клеток, объема клеток и питательных веществ при однократном культивировании дрожжевых клеток. а — объем 50 клеток, б — логарифм числа клеток, в — редуцирующие вещества

Результаты, полученные в средах с 0,2 и 1% глюкозы, приведены в табл. 2.

Влияние продуктов жизнедеятельности на объем клеток. Опыты были поставлены последовательными циклами на одной и той же среде с добавлением новых количеств питательных веществ и приведением числа клеток в начале каждого цикла к величине 400—900 тыс. в 1 мл. Результаты опыта приведены в табл. 3.

Изменение объема клеток в условиях последовательного культивирования на свежей среде. Опыты проводились в 3 л среды. Посевным материалом нового цикла служили дрожжи конца размножения культуры предыдущего этапа. Полученные данные приведены на рис. 2.

Экспериментальные результаты подтверждают с некоторыми различиями закономерности изменения объемов клеток на разных этапах роста культуры, описанные ранее для *Bact. coli* и *Vac. megatherium* (6).

Эти результаты позволяют сделать следующие выводы.

1. Ввиду того что результаты наших опытов выражены не линейными размерами, а объемами, изменения величин клеток оцениваются более точно и более близко к реальным изменениям синтезируемого живого вещества клеток.

2. Сопоставление объемов с концентрацией питательных веществ в течение всего процесса размножения выявило определенную зависимость между изменениями объемов и концентрацией пищи.

3. Восстановление объема клеток в новой среде имеет место не только в фазе покоя, но и в течение логарифмической фазы культуры.

4. В условиях наших опытов восстановление объемов клеток происходит одновременно при разреженных и густых посевах. Только в последнем случае уменьшение объемов наступает раньше вследствие быстрого потребления питательных веществ среды.

5. В наших опытах, при концентрации глюкозы от 0,1 до 10%, срок достижения максимального объема оказался одинаковым, но интенсивность процесса восстановления выше при более высоких концентрациях пищи.

Сопоставление концентрации питательных веществ с количеством клеток в культуре показывает, что изменения объемов обуславливаются в основном концентрацией питательных веществ, а не числом клеток в

Таблица 1

Продолжительность опыта	Число клеток, млн/мл		Объем 50 клеток, $\mu^3$	
	разреж. посев	густой посев	разреж. посев	густой посев
0	110	1380	2470	2440
1 ч. 20 м.	—	—	3920	4120
2 ч. 20 м.	—	—	4250	3120
5 ч. 40 м.	880	2340	2580	2430
20 час.	1560	3320	2300	1930

среде. Так, при избытке пищи густота посева не препятствует восстановлению объемов до максимума, и, напротив, при низких концентрациях пищи максимальный объем клеток достигается только в случае разреженного посева. На этом же основании можно объяснить и данные, полученные на твердых средах со *Streptococcus lactis* (7).

Наши опыты, подтверждающие решающую роль фактора питания при изменении объемов, показывают в то же время, что продукты обмена, накапливающиеся в среде, играют также определенную роль в угнетении роста и развития клеток, как было замечено рядом исследователей (8-11).

Эти явления показывают, что при изучении причин изменения объема клеток при разных этапах размножения культуры всегда следует иметь в виду взаимоотношение между микроорганизмами и условиями внешней среды и питания. Поэтому надо отметить также, что результаты, приведенные в этой области, сравнимы только при соблюдении постоянства условий опыта, как то: вязкость, концентрация солей

среды (12), pH, соотношение дыхательного и ферментативного обмена клеток (13), предварительные условия культивирования и т. д.

Изменение объемов клеток при последовательных циклах непрерывной технологии показывает, что объемы клеток в пределах одного цикла изменяются в зависимости от условий питания, от цикла же к циклу остаются постоянными.

Дальнейшее изучение закономерности изменения морфологических, а также физиологических свойств микроорганизмов позволит создать возможность направленного воспитания микроорганизмов, отбираемых на различных этапах роста культуры внутри отдельного цикла как в лабораторных, так и в производственных условиях (14, 15).

Институт животноводства  
Министерства сельского хозяйства Арм. ССР  
Ереван

Поступило  
23 X 1951

Таблица 2

Продолжительность опыта в часах	Число клеток, млн/мл		Объем 50 клеток, $\mu^3$	
	0,2%	1%	0,2%	1%
0	3,5	3,5	3600	3600
2	—	30,2	5100	6800
4	83,0	91,0	4400	5200
6	220,0	290,0	3250	3950
11	350,0	1150,0	2750	3500
20	—	1250,0	—	3000

Таблица 3

Цикл	Число клеток в млн.		Объем 50 клеток при различных этапах размножения культуры в $\mu^3$		
	начало	конец	начало	момент максимума	конец
I	0,42	870	3200	5000	3100
II	0,85	770	3100	4300	2700
III	15,00	325	2700	3750	2500

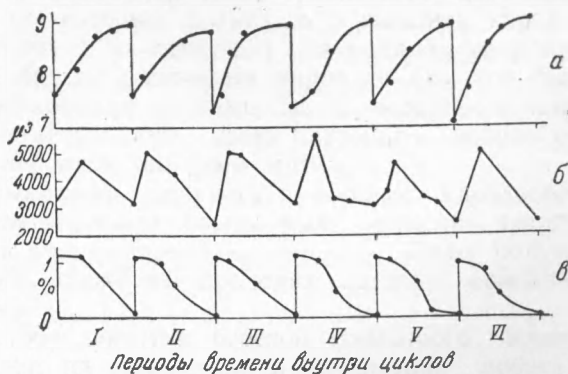


Рис. 2. Изменения числа клеток, объема клеток и питательных веществ при непрерывных циклах выращивания. а — логарифм числа клеток, б — объем 50 клеток, в — редуцирующие вещества

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> М. А. Тер-Карапетян, Ш. А. Авакян и Г. С. Арутюнян, Докл. АН Арм. ССР, **10**, 5, 223 (1949). <sup>2</sup> Е. А. Плевако и Р. В. Гивартовский, Технология дрожжевого производства, 1949. <sup>3</sup> М. А. Тер-Карапетян и А. М. Оганджанян, Тр. Ин-та животноводства, Ереван, **3**, 155 (1950). <sup>4</sup> М. А. Тер-Карапетян, Изв. АН Арм. ССР, сер. биол., **3**, 433 (1950). <sup>5</sup> Е. Н. Мишустин, Микробиология, **6**, 4, 435 (1937). <sup>6</sup> А. Т. Неприси, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., **19**, 132, 343 (1921); **21**, 215 (1923). <sup>7</sup> М. А. Красильников, Усп. совр. биол., **31**, 3, 346 (1951). <sup>8</sup> А. А. Имшенецкий, Микробиология, **4**, 3, 350 (1935). <sup>9</sup> Н. А. Иерусалимский, там же, **11**, 5-6, 244 (1942). <sup>10</sup> Л. И. Чекап, там же, **3**, 2, 266 (1934). <sup>11</sup> В. Н. Шапошников, А. Я. Мантейфель и Ф. М. Чистяков, Бюлл. н.-и. Хим. фарм. ин-та, 1930. <sup>12</sup> И. Н. Верховская, Микробиология **5**, 3, 423 (1936). <sup>13</sup> М. Н. Мейсель, ДАН, **20**, 481 (1938); Микробиология, **8**, 3-4, 381 (1939); Функциональная морфология дрожжевых организмов, изд. АН СССР, 1950. <sup>14</sup> К. В. Косиков, Микробиология, **20**, 4, 365 (1951). <sup>15</sup> В. И. Кудрявцев, там же, **20**, 2, 155 (1951).