

МИКРОБИОЛОГИЯ

Ю. Н. КАРСЕВИЧ

**ВЛИЯНИЕ АЗОТИСТОГО ПИТАНИЯ НА ХАРАКТЕР РОСТА
СКЛАДЧАТОЙ И ГЛАДКОЙ ФОРМ SACCHAROMYCES CEREVISIAE**

(Представлено академиком А. И. Опариным 2 II 1953)

В литературе имеются указания на то, что внешний вид колоний складчатых и гладких форм микроорганизмов может сильно изменяться в зависимости от состава плотной питательной среды (1). На некоторых средах полностью исчезает морфологическое различие между складчатой и гладкой формами микроорганизмов, тогда как на других средах это различие резко проявляется.

Исследуя особенности развития складчатой и гладкой форм *Saccharomyces cerevisiae* (Ростовская раса), мы обнаружили, что при росте на синтетической среде Ридер почти полностью исчезала разница в морфологии складчатой и гладкой форм, в то время как на сусло-агаре постоянно сохранялось резкое различие во внешнем виде клеток и колоний. Нашими прежними исследованиями было установлено, что в аэробных условиях, при росте на сусло-агаре в виде гигантских колоний, складчатая форма дрожжей потребляет сахара быстрее и экономичнее, что позволяет ей в одинаковый промежуток времени накопить большую биомассу. В анаэробных же условиях этого различия не наблюдается.

В данной работе мы хотели выяснить скорость накопления биомассы у складчатой и гладкой форм *Saccharomyces cerevisiae* на синтетической среде. Кроме того, была предпринята попытка найти питательные вещества, добавление которых к синтетической среде способствовало бы выявлению морфологической и физиологической разницы между складчатой и гладкой формами дрожжей. Все это приблизило бы нас к выяснению характера обмена веществ у изучаемых вариантов.

Основной средой для опытов служила синтетическая среда Ридер следующего состава (в граммах): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 3; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,7; NaCl — 0,5; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ — 0,4; глюкоза — 60; KH_2PO_4 — 1; K_2HPO_4 — 0,1. Вода водопроводная проавтоклавированная — 1 л. Агар-агар — 2%, pH доводился до 6,50.

В качестве источника витаминов в среду вносилось 3 мл 30% дрожжевого автолизата. В чашки Петри диаметром 7 см пипеткой наливалось одинаковое количество агаризованной среды, обычно 11—12 мл.

Чашки подсушивались 2 дня при комнатной температуре, а затем в центр пластинки агара петлей наносилась густая взвесь клеток дрожжей из односуточной культуры гладкой или складчатой формы. Чашки помещались в эксикатор, на дно которого наливалось немного воды с целью предотвратить высыхание агара. Аэрация культур обеспечивалась благодаря отверстию в крышке эксикатора. Продолжительность каждого опыта 12 дней. Спустя этот срок измерялся диаметр гигантских колоний. Затем колония петлей переносилась на стеклянный фильтр № 4,

промывалась и высушивалась при 100° до постоянного веса. На каждый фильтр снимались две колонии. Затем агар тщательно измельчался, переносился в колбу и заливался водой для экстрагирования сахаров. В каждую колбу вносился агар из двух чашек, соответствовавшим колониям на фильтре.

Экстрагирование проводилось под толуолом при температуре 50° в течение суток. Затем измельченный агар отфильтровывался на воронке Бюхнера под вакуумом (для ускорения фильтрации и удаления толуола) и промывался до отрицательной реакции на сахара как в фильтрате, так и в агар-агаре. Сахара определялись методом Бертрана. Определение производилось в контрольных чашках и в опыте. Потребленный сахар высчитывался по разности этих двух цифр. Опыты проводились при температуре 27°.

Оказалось, что размер гигантских колоний складчатой и гладкой форм дрожжей, выросших на синтетической среде, приблизительно одинаков. Кроме того, морфологически складчатая форма начинает походить на гладкую. Одновременно с изменением морфологии исчезает разница в скорости накопления биомассы и в потреблении сахаров складчатой и гладкой формами дрожжей (табл. 1).

Таблица 1

Накопление биомассы в колониях складчатой и гладкой форм *Saccharomyces cerevisiae* (Ростовская раса) на синтетической среде с $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в качестве источника азота (среднее из 3 опытов)

	Складчатая форма	Гладкая форма
Диаметры колоний в мм	14,6	14,2
Вес накопленной биомассы в мг на чашку	27,4	26,3
% накопления биомассы	104	100
Потребление сахара в мг на чашку	266,8	256,2
Экономический коэффициент	10,26	10,26
Потребление сахара в мг на мг сухого веса	9,73	9,74

Отсутствие различия в морфологии колоний и выходах биомассы заставило предположить, что в синтетической среде Ридер не достает каких-то питательных веществ, необходимых для выявления тех особенностей складчатой формы, благодаря которым она получает преимущество перед гладкой формой при росте на сусло-агаре в аэробных условиях. Поэтому были предприняты поиски таких соединений. Оказалось, что при замене в синтетической среде сернокислого аммония эквивалентным по азоту количеством пептона или некоторых аминокислот, с сохранением всех прочих условий опыта, полностью проявляется морфологическая и физиологическая разница между складчатой и гладкой формами дрожжей, а абсолютные величины выхода биомассы и потребления сахаров приближаются к таковым на сусло-агаре. В данной работе в качестве источника азотного питания брались глутаминовая и аспарагиновая кислоты. Результаты этих опытов приведены в табл. 2.

Таблица 2

Накопление биомассы в колониях складчатой и гладкой форм *Saccharomyces cerevisiae* (Ростовская раса) на синтетической среде с глутаминовой и аспарагиновой кислотами в качестве источника азота (среднее из 4 опытов)

	Среда с глутаминовой кислотой		Среда с аспарагиновой кислотой		Среда с $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (контроль)	
	складчатая форма	гладкая форма	складчатая форма	гладкая форма	складчатая форма	гладкая форма
Диаметр колоний в мм . .	23,5	14,7	19,5	14,4	14,1	13,6
Вес накопленной биомассы в мг на чашку	58,7	32,7	44,6	30,8	26,7	26,6
% накопления биомассы . .	179	100	144	100	100	100
Потребление сахара в мг на чашку	348,6	252,6	319,6	222,5	—	—
Экономический коэффициент	18,7	14,2	13,9	13,8	—	—
Потребление сахара в мг на мг сухого веса	5,51	7,0	7,16	7,22	—	—

Мы видим, что на синтетической среде с глутаминовой кислотой складчатая форма *Saccharomyces cerevisiae* накапливает на 79% больше биомассы, чем гладкая. В то же время потребление сахара возрастает на 38%. Наконец, в данных условиях опыта экономический коэффициент у складчатой формы на 31% выше, чем у гладкой. Этого не наблюдалось на синтетической среде с сернокислым аммонием (см. табл. 2).

На синтетической среде с аспарагиновой кислотой в качестве источника азотного питания в общем наблюдается та же закономерность, что и при росте на среде с глутаминовой кислотой. Более медленное потребление сахаров как складчатой, так и гладкой формами дрожжей заставляет предположить, что среда с аспарагиновой кислотой менее благоприятна для роста дрожжей, чем среда с глутаминовой кислотой.

Относительно более низкие выходы биомассы у складчатой формы на этой среде, а также отсутствие разницы в экономических коэффициентах у складчатой и гладкой форм объясняются сильным вращением складчатой формы в пластинку агара со средой, содержащей аспарагиновую кислоту, что неизбежно приводит к некоторым потерям урожая дрожжей и искажению конечных результатов. Поэтому цифры соответствующих разделов табл. 2 для складчатой формы не имеют абсолютного значения и приводятся лишь для сравнения. Тем не менее, у нас не возникает сомнения в том, что на среде с аспарагиновой кислотой проявляются все особенности складчатой формы, наблюдавшиеся на сусло-агаре и на среде с глутаминовой кислотой, хотя среда с аспарагиновой кислотой и не является столь благоприятной для роста дрожжей, как две последних.

Таким образом, можно прийти к выводу, что физиологическое различие между складчатой и гладкой формами дрожжей наблюдается только при культивировании их на средах, на которых отчетливо выражены морфологические особенности колоний.

Приношу глубокую благодарность А. А. Имшенецкому за ряд ценных указаний к этой работе.

Поступило
10 XII 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ А. А. Имшенецкий, Микробиология, 10, 3 (1941).