

М. А. Тер-Карапетян, чл.-корресп. АН Армянской ССР, Ш. А. Авакян
 и Г. С. Арутюнян

Влияние условий среды на почкование *Torulopsis armeniaca*

(Представлено 30 V 1949)

Распознавание физико-химических условий внешней среды, с которыми сталкиваются микроорганизмы, необходимо для лучшего их использования в научно-исследовательских и производственных целях.

К ряду внешних условий, могущих влиять на жизненные отправления клетки, должны быть отнесены: температура, концентрация водородных ионов, природа и концентрация источников углерода и азота, необходимые неорганические ионы и ряд других необязательных неорганических и органических веществ.

В настоящей работе нами приводятся результаты некоторых предварительных исследований дрожжей *Torulopsis armeniaca*^(6,7) в отношении влияния внешних условий на почкование их клеток. Штамм этот представляет интерес в связи с переработкой с/х отходов⁽⁴⁾.

Методика исследования следующая: культивирование дрожжей на естественных или синтетических жидких средах в условиях, не допускающих значительных качественных и количественных изменений в течение периода ведения опыта; подготовка культур к опыту за 18 часов до начала его; учет результатов подсчета клеток в камере Тюрка в разное время в логарифмической фазе в течение 10 часов. Количество размножившихся клеток служит основанием для определения соотношения популяций в начале и в конце опыта $\left(\frac{n}{n_0}\right)$, времени почкова-

ния по формуле: $g = \frac{t \cdot \log. 2}{\log \frac{n_2}{n_1}}$ и константы скорости по формуле:

$k = \frac{2,3}{t} \cdot \log \frac{n_2}{n_1}$, каковые величины характеризуют активность клеток.

Влияние природы сред. Питательные среды для учета времени почкования клеток изучались в следующем порядке: синтетические среды с глюкозой, ксилозой, пивное сусло, гидролизат хлопковой ше-

лухи, гидролизат хлопковой шелухи + солодовые ростки, гидролизат соломы и гидролизат соломы + солодовые ростки. Посев дрожжей в 100 мл различных сред из расчета $200.000 \pm 20\%$ клеток в 1 мл среды, и ведение опыта при 35°C дали следующие результаты (табл. 1):

Таблица 1

Название среды	Колич. клеток в 1 мл среды через 8 часов (тыс.)	Время почкования (мин.)	Константа скорости почкования ($k \cdot 10^3$)
1. Синтетическая среда + глюкоза	4.140	71	9,7
2. Сусло*	4.780	67	10,3
3. Гидролизат хлопковой шелухи	2.880	103	6,7
4. Гидролизат хлоп. шелухи + солод. ростки	3.720	87	7,9
5. Гидролизат соломы	2.000	109	6,3
6. Гидролизат соломы + солодовые ростки	2.800	87	7,9

Влияние температуры. Выяснив предварительным испытанием, что оптимум температуры размножения *Torulopsis armeniaca* лежит между 33 и 38°C , последующие испытания для уточнения оптимальной точки проводились нами на этой короткой шкале.

Данные, приведенные в таблице 2 и фигуре 1, показывают, что оптимальная точка температуры находится на $35^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Таблица 2

Таблица 3

Посев: $100.000 \pm 20\%$ в 1 мл среды.
Глюкоза 1% ; pH = 5.

Посев $200.000 \pm 15\%$ клеток в 1 мл.
Температура -34°C , pH = 5.

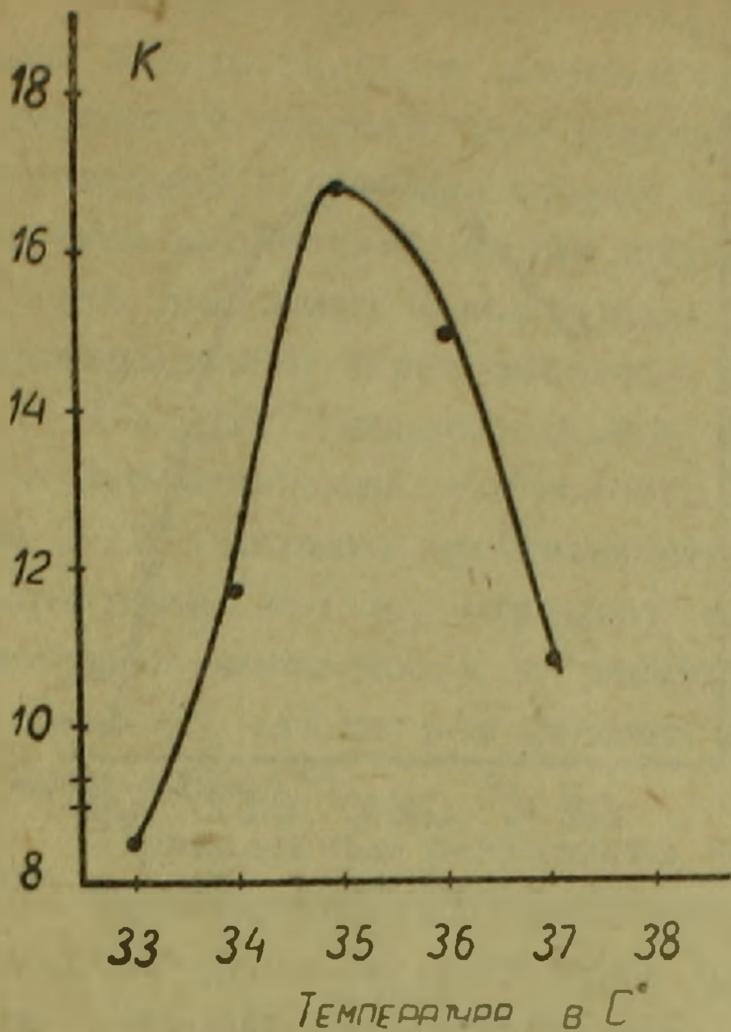
Температура (в $^{\circ}\text{C}$.)	Время почкования (в мин.)	Константа скорости почкования ($k \cdot 10^3$)	Концентрация глюкозы (в $\%$)	Время почкования (в мин.)	Константа скорости почкования ($k \cdot 10^3$)
33	81	8,5	0,2	85	8,1
34	59	11,70	0,5	72	9,6
35	41	16,8	1,0	58	11,9
36	46	15,0	2,0	61	11,3
37	64	10,8	5,0	70	9,9
			10,0	87	7,9

Влияние концентраций источника углерода. Концентрации глюкозы в пределах $0,2-10\%$ показали, что скорость почкования прямо пропорциональна им до 1% , не изменяясь практически до 2% ; после же 2% наступает постепенное замедление, а при 10% — скорость почкования составляет приблизительно 65% от скорости при 1% .

Средние данные, показанные по двум опытам в таблице 3 и фигуре 2, выражают закономерность влияния концентраций глюкозы.

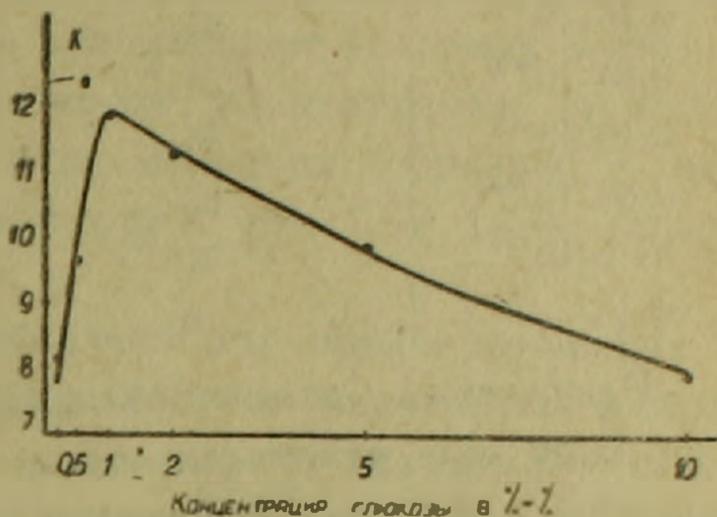
* Сусло нехмеленное — из солода нашей лаборатории.

Влияние концентраций водородных ионов. Концентрации водородных ионов на синтетической среде с 1% глюкозы испытывались на шкале от рН = 2,4—7. Оптимальной оказалась рН = 5 ± 0,5, ниже и выше которой размножение замедляется, а при рН = 2,4—почти полностью задерживается. Табл. 4 и фиг. 3 показывают результаты наших опытов.



Фиг. 1.

Влияние концентраций солей. Изучалось влияние концентраций



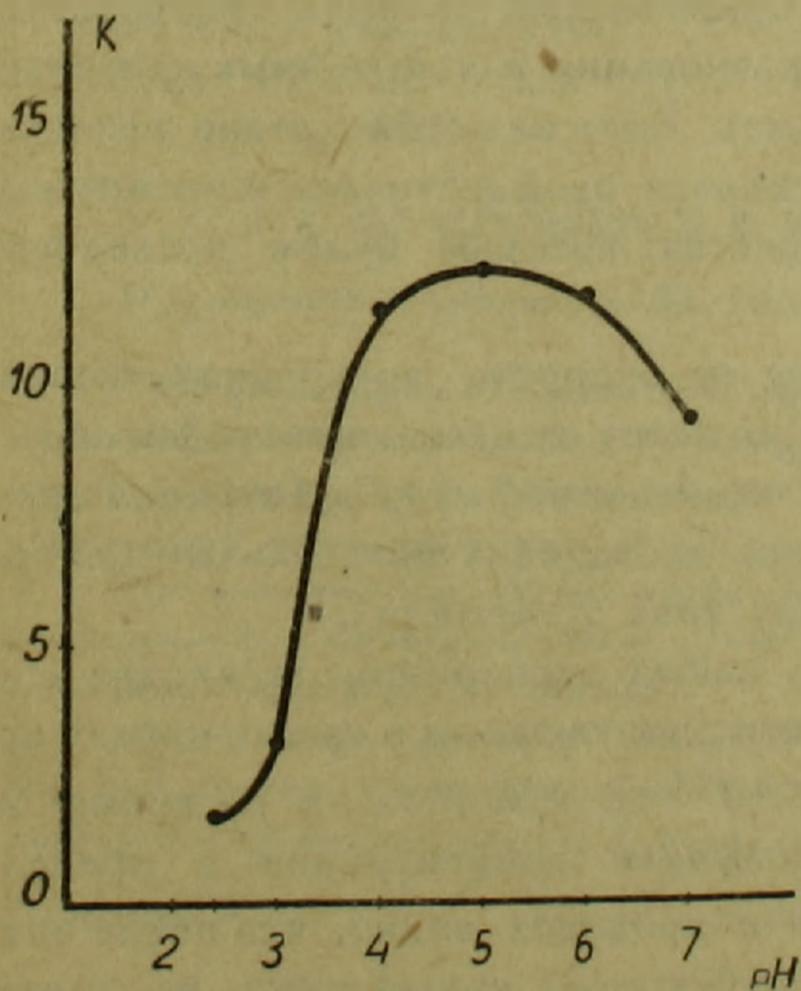
Фиг. 2.

солей испытываемых сред, содержащих все необходимые элементы, сумма концентраций которых изменялась от $0,16 \cdot 10^{-2}$ Мол. до 0,16 Мол.; в то время как количественные взаимоотношения ионов SO_4 , HPO_4 , K^+ , Mg^{++} , NH_4^+ , и т. д. оставались неизменными. Полученные результаты

Таблица 4

Посев $400.000 \pm 20\%$ клеток в мл среды.
Температура—34°С. глюкоза—1%.

рН	Время почкования (в мин.)	Константа скорости ($k \cdot 10^3$)
2,4	408	1,7
3	222	3,1
4	50,5	11,4
5	57	12,1
6	59,5	11,6
7	74	9,3



Фиг. 3.

увеличение концентрации снижает скорость размножения вплоть до

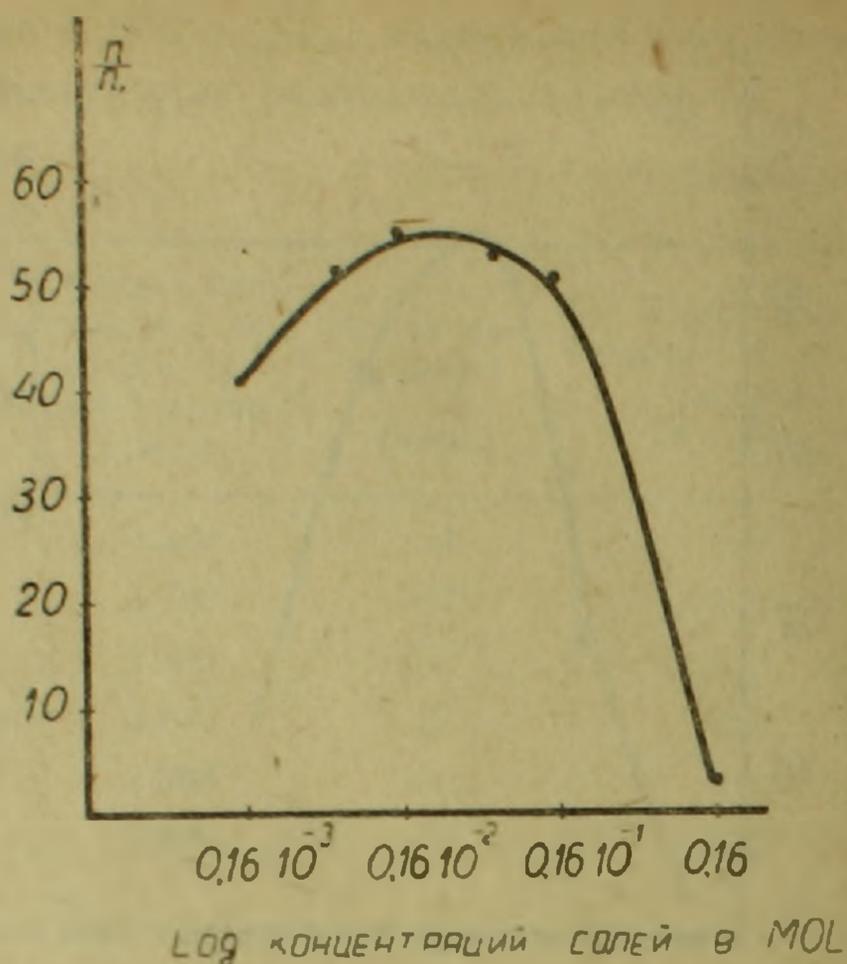
показывают, что размножение клеток изменяется прямо пропорционально до достижения некоторого оптимума, который находится в пределах $0,64 \cdot 10^{-3}$ Мол. до $0,16 \cdot 10^{-1}$ Мол. Дальнейшее же

полного прекращения при величинах концентраций порядка 0,16 Мол. (табл. 5 и фиг. 4.).

Таблица 5

Посев $120\,000 \pm 20\%$ клеток в мл среды.
Температура— 34°C , глюкоза 1%.
Таблица 5

Концентрация солей (в Мол.)	Соотношение популяций в конце и в начале опыта $\left(\frac{n}{n_0}\right)$
$0,16 \cdot 10^{-3}$	41
$0,64 \cdot 10^{-3}$	51,5
$0,16 \cdot 10^{-2}$	55
$0,64 \cdot 10^{-2}$	53
$0,16 \cdot 10^{-1}$	51
0,16	3



Фиг. 4.

Результаты описанной работы дают нам некоторое представление о кинетике размножения *Togulopsis armeniasa*, о чем до настоящего времени не было достаточных сведений.

Влияние на почкование сред, имеющих различное происхождение, весьма заметно и, как известно, зависит от наличия в них ингибиторов и активаторов.

Отношение штамма к температуре позволяет нам отнести его к мезофилам. Следует отметить, что приведенный оптимум температуры действителен только для процесса почкования в испытанных кратковременных (8—10 час.) опытах; он может быть не столь резко выраженным, как на фиг. 1. Этот оптимум нельзя отождествлять с оптимумами брожения и синтеза клеточного вещества, которые будем исследовать в дальнейшем.

Влияние концентраций глюкозы на скорость почкования выразилось в кривой, которая несколько уклоняется от известных графиков^(1,9), где скорость размножения остается независимой от концентраций среды с переходом предела их, вследствие насыщения питательных центров клетки (кривая напоминает изотерму типа Лэнгмюра).

Кривая, полученная на основе наших экспериментов, сходна с таковой Мейергофа⁽⁸⁾, так как концентрации глюкозы в наших средах принадлежат к тому же ряду, т. е. от 10^{-2} до 0,55 Мол., в то время как вышеупомянутые авторы использовали концентрации в пределах 10^{-4} до 10^{-3} Мол. Из наших опытов с глюкозой видно, что после оптимальной концентрации вещество субстрата, действуя на клетку, может вызывать явление осмотического эффекта, которое делает невоз-

можным процесс ассимиляции. Это имеет место и в случаях высоких концентраций солей в среде (фиг. 4).

Концентрации водородных и неорганических ионов могут оказывать воздействие на жизнедеятельность клетки рядом механизмов — изменением степени диссоциации усвояемых веществ, гидратацией и ионизацией клеточных белков и т. д. Для выяснения этого необходимо изучить химический состав протоплазмы клетки, соотношение концентраций усвояемых ионов внутри клетки и во внешней среде, особенности проницаемости через оболочку клетки различных веществ.*

Следует, однако, сказать, что выявленные оптимумы и вообще все биологические особенности нашего штамма являются результатами 2—2½-летнего культивирования в стандартных условиях нашей лаборатории, что не отрицает возможности адаптативных процессов, могущих иметь место в растущих концентрациях глюкозы и солей в среде (4), а также при высоких температурах, как это было доказано рядом работ (2,5).

Приведенные результаты представляют ряд предварительных данных закономерностей почкования под влиянием некоторых факторов внешней среды. В настоящее время в отношении изучаемого штамма мы располагаем следующими оптимумами: температура = $35^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$, $\text{pH} = 5 \pm 0,5$, концентрации солей — от $0,64 \cdot 10^{-3}$ до $0,16 \cdot 10^{-1}$ Мол. и концентрации глюкозы от 1 до 2%.

Полученные данные позволяют нам иметь представление относительно процесса почкования *Torulopsis armeniaca* и возможность управлять обменом веществ этого грибка при различных промышленных переработках.

Институт животноводства
Академии Наук Армянской ССР
Ереван, 1949, май.

Մ. Ա. ՏԵՐ-ՎԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Ծ. Ա. ԱՎԱԳՅԱՆ ԵՎ Զ. Ս. ՉԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

Միջավայրի ազդեցությունը *Torulopsis armeniaca*-ի բողբոջման վրա

Բջջի կենսադործունեության վրա ազդող ֆիզիկո-քիմիական պայմաններից կարևորագույններն են՝ ջերմաստիճանը, ջրածնային իոնների կոնցենտրացիան, ածխածնի և ազոտի աղբյուրները, ինչպես նաև օրգանական ու անօրգանական անհրաժեշտ նյութերի կոնցենտրացիան տվյալ միջավայրում:

Այս դանական գործոնների ազդեցության մեխանիզմի մասին ճշգրիտ տվյալներն անհրաժեշտ են միկրոօրգանիզմների զիտա-հետազոտական ուսումնասիրության և արդյունաբերական օգտագործման համար:

Որպես օրեկտ ընտրելով *Torulopsis armeniaca*-ի մի շտամ, մենք ուսումնասիրել ենք նրա բազմաճման պրոցեսը բնական և սինթետիկ հեղուկ միջավայրերում: Բջջիները բողբոջման կինետիկան որոշվել է փորձի սկզբում և վերջում՝ բջջիների ընդհանուր թվի հարաբերությամբ $\left(\frac{n}{n_0}\right)$, բողբոջման ժամանակը ըստ $g = \frac{t \cdot \log 2}{\log \frac{n}{n_1}}$ -ի և բողբոջման արա-

* Для большей четкости учета влияния солей, желательно принимать во внимание концентрации не солей, а ионов, и их активность.

դուրսի կոնստանտը ըստ
$$K = \frac{2.3}{t} \log \frac{n^2}{n_1} - t'$$

Մեր փորձերից ստացված արդյունքները բերում են հետևյալ եզրակացություններին.

1. Բողբոջման արագութունը ըստ տարբեր միջավայրերի դասավորվում է 1-ին աղյուսակում ցույց ցտրված հերթականության համաձայն:

2. Շտամի բողբոջման ջերմաստիճանի օպտիմումը 10 ժամ տևող փորձերում, գտնվում է $35 \pm 1C^0$ աստիճանում (տես աղ. 2 և կոր 1):

3. Ածխածնի աղբյուրի կոնցենտրացիայի ազդեցութունը ցույց է տալիս, որ բազմացման արագութունը ուղիղ համեմատությամբ աճում է $0,20/0$ -ից մինչև $10/0$, չի փոփոխվում 1-ից— $20/0$, որից հետո աստիճանաբար նվազում է և $100/0$ կոնցենտրացիայում հասնում է մաքսիմալ արագության մոտ $650/0$ -ին (տես աղ. 3 և կոր 2):

4. Ջրածնային իոնների կոնցենտրացիայի ազդեցութունը ցույց է տալիս, որ նշված պայմաններում բողբոջման արագության օպտիմումը գտնվում է $pH = 5 \pm 1$ -ի սահմաններում (տես աղ. 4 և կոր 3):

5. Աղային կոնցենտրացիայի ազդեցութունը ցույց է տալիս, որ զանազան իոնների փոխհարաբերության կայուն պայմաններում, բազմացման արագութունն աճում է $0,16 \cdot 10^{-3}$ մոլից մինչև $0,16$ մոլի սահմաններում, որից հետո աստիճանաբար ընկնում է մինչև $0,16$ մոլի. այս վերջին կոնցենտրացիայում բջիջների բողբոջումը համարյա կանգ է առնում:

ЛИТЕРАТУРА — Գ Ր Ա Վ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

1. В. М. Жданов. ДАН СССР, 58, 311, 1947.
2. А. А. Имшенецкий. Микробиологические процессы при высоких температурах. Изд. АН СССР, 19 и 51 1944.
3. А. А. Имшенецкий и Л. Г. Логинова. Микробиология, 13 (4), 136, 1944.
4. С. К. Карапетян, А. К. Паносян, Ф. Г. Саруханян и М. Н. Гукасян. Микробиол. сборн., 1, 3, 1943.
5. Л. Г. Логинова. Микробиология, 15 (5), 310, 1945.
6. Ф. Г. Саруханян. Микробиол. сборн., 1, 97, 1943.
7. Ф. Г. Саруханян. Изв. АН Армянской ССР (естествен. науки), № 3, 43, 1944.
8. О. Meyerhof. Pflug. Arch. ges. Physiol., 164, 390, 1916, 166, 240, 1917.
9. W. J. Penfold and D. Norris. J. Hyg. 12, 257, 1912.