

Յ.Յ.Մարշաւինա, Տ.Դ.Ասլանյան, Յ.Ա.Մարոյան

ՄՈՐՓՈ-ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԿԵՍԻԵ ՕՍՈԲԵՆՆՈՒՄԻ Ի ՆԵԿՈՏՐԻԵ ՄՍԼՈՎԻԱ
ԿՍԼՏԻՎԻՐՈՎԱՆԻԱ ՍՐՈԴՍԵՆՏՈՎ ԼԻԶԻՆԱ

Տրեմ ակտիւնի սրոԴսենտՈՎ ԼԻԶԻՆԱ ՕՍՈԲԵ ՄԵՏՈ ԶԱՆԻՄԱՅԻՄ
ԱՍԿՈՏՐՈՖԻԵ ՄՒՏԱՆՏԻ ՆԱ ՐՈԴՈՎ *Micrococcus*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, ճեփԻՏԻՆԵ ՍՈ ՆԵԿՈՏՐԻԵ ԱՄԻՈՔԻՍԼՈՏԱՄ Ի ՅԻՈՏԻՆՍ
/ԵրշեՉԿԱ Ի ԴՐ.1964;ԴրԻՄԻՆԻՅ , 1968; Ալիքանյան, 1968; ՍաՏենՏ ՏՄԱ
№284532, 1965; ՅաՅԵՈՎԱ, 1966; ԿՍՉԵՈՎԱ, ԿԼԵՈՎԱ, 1966/.

ՍրեճաՎԵՏԻԼԻ *Micrococcus glutamicus* քարակՏրԻԶՍՏԻՅՏԻ
ՆԱՐՍՅԵՆՆԻՄ ՏԻՆԵԶՈՎ ԴՈՄՈՏԵՐԻՆԴԵԴԻԴՐՈԴԵՆԱԶԻՄ Ի քարակՏրԻԶՍՏԻՅՏԻ
ԱՄԻՈՔԻՍԼՈՏԻՆՈՒ ԶԱՎԻՍԻՄՈՒՄԻՅՏԻՅՏԻՅՏԻ Վ ՕՍՈՎՈՅՈՒՄ ՈՏ ԴՈՄՈՏԵՐԻՆԱ ՈՒԼԻ ՈՏ
ԴՐԵՈՒՆԻՆԱ Ի ՄԵՏԻՈՒՆԻՆԱ /ԿԻՈՏԻՏԱ,1965/. ԻՅՎԵՏԻՄ ՆԵՄՈՒՅԵ ՐԱԲՈՏԻ,
Վ ԿՈՏՐԻՅՏԻՅՏԻ ՎԼԻՅԱՆԻԵ ՐԱԶԼԻՉՆԻՅ ՄԵՏԱԲՈԼԻՏՈՎ,Վ ՉԱՏԻՈՏԻՅՏԻ,
ՈՏԴԵԼՅԱՆԻ ԱՄԻՈՔԻՍԼՈՏ ՆԱ ՏՎԵՐՏԻՆԵԶ ԼԻԶԻՆԱ ՄՒՏԱՆՏԱՄ, Սրեճ-
աՎԵՏԻՅԱՆԻ ՍՐԱԿՏԻԿԵՍԻԻ ՆԻՒՏԵՐԵՍ, Ի ԵՃԵ ՄԵՆՅԵ ՐԱԲՈՏ, ՐԱՏԿՐԻՎԱԾ-
ՉԻՅ ՆՈՒ ՓԻԶԻՈԼՈԴ-ԲԻՈՔԻՄԻԿԵՍԻԵ Ի ԿՍԼՏՐԱԿՒՐԱԼՆԵ ՏՎՈՅՏԻՅՏԻՅՏԻ /ՅաՅԵ-
ՈՎԱ, 1970). ԶԱՆԻՄԱՅՏԻ ՐԱԶՐԱԲՈՏԻԿՈՒ ՄՈՒՅԻՅ ՎՈՐՍՈՎ ՍՐՈԴՍԵՆՏԻՅՏԻ ԼԻ-
ԶԻՆԱ ՄԻԿՐՈԲԻՈԼՈԴԻԿԵՍԻԵ ՍՐԵՄ Տ ՍՈՒՄՈՒՅՏԻ ՄՒՏԱՆՏՈՎ *M. glutamicus*
95, 28,8, Վ ԼԱԲՈՐԱՏՈՐԻԱ ԲԻՈՏԻՆԵԶԱ ԼԻԶԻՆԱ ԻՆՏԻՏՒՏԱ ՄԻԿՐՈԲԻՈ-
ԼՈԴԻԱ ԱՆ ԱՐՄ.ՏՏՐ ԲԻՅԱ ՍրՎԵԴԵՆԱ ՐԱԲՈՏԱ ՍՈ ՆԵՉՈՒՄ ՆՈՒ ՄՈՐՓՈ-
ԲԻՈՔԻՄԻԿԵՍԻԵ Ի ԿՍԼՏՐԱԿՒՐԱԼՆԻ ՏՎՈՅՏԻՅՏԻ Վ ՐԱԶԼԻՉՆԻՅ ՄՍԼՈՎԻԱՄ ՓԵՐ-
ՄԵՆՏԱԿԻՆ.

ՄաՏԵՐԻԱԼ Ի ՄԵՏՈԴԻ ԻՍՍԼԵԴՈՎԱՆԻՅ

ՄաՏԵՐԻԱԼՈՄ ՆԵՉՈՒՄԱ ՅԱՎԻԼԻՅՏԻ ՉԵՏԻՐԵ ԿՍԼՏՐԱԿՒՐ-ՍրՈԴՍԵՆՏԻՅՏԻ ԼԻ-
ԶԻՆԱ: *Micrococcus glutamicus* իՏ.95, ճեփԻՏԻՆԵ ՍՈ ԴՈՄՈՏԵՐԻՆՍ
ՈՒԼԻ ԴՐԵՈՒՆԻՆՍ Ի ՄԵՏԻՈՒՆԻՆՍ, ՍՐՈԴՍԵՆՏԻՅՏԻ Վ ԼԱԲՈՐԱՏՈՐԻԱ ՏԵԼԵԿԻՅԻ Ի
ԴԵՆԵՏԻԿԱ ՄԻԿՐՈՐԴԱՆԻԶՄՈՎ ԻՆՏԻՏՒՏԱ ԱՏՈՄԻՅԱ ՆԵՐԴԵՂԻ ՆԻՄ.Ի.ԿՍՐՉԱ-
ՏՈՎԱ; *Brevibacterium* իՏ.22, ճեփԻՏԻՆԵ ՍՈ ԴՐԵՈՒՆԻՆՍ, ՄԵՏԻՈՒՆԻՆ-
ՍՍ Ի ՅԻՈՏԻՆՍ, ՍՐՈԴՍԵՆՏԻՅՏԻ Վ ԻՆՏԻՏՒՏԱ ԲԻՈՔԻՄԻԱ ԱՆ ՏՏՏՐ ՆԻՄ.Ա.Ն.ԲԱ-
ՒԱ; ՄՒՏԱՆՏԻ *M. glutamicus* իՏ. 8 Ի իՏ.28, ճեփԻՏԻՆԵ ՍՈ ԴՈՄՈՏԵ-

рину, полученные от *M. glutamicus* шт.95 в Институте микробиологии АН Арм.ССР.

Морфо-физиологические особенности изучаемых культур исследовались общепринятыми методами. Культуральные свойства проверялись на пептонной воде /ПВ/, агаризованной среде Хоттингера, сусло-агаре, ломтиках картофеля и моркови. Из физиологических особенностей отмечались: способность к образованию ацетилметилкарбинола /АМК/, каталазы, амилазы, уреазы, свойство восстанавливать нитраты в нитриты, пептонизировать молоко, разжижать желатину, а также реакции на образование индола и сероводорода. Аукоинографическим методом изучалось усвоение различных источников углерода /сахара, органические кислоты/ на среде следующего состава /в г на 1л/: $\text{NH}_4 / 2 \text{SO}_4$ - 2,64; KH_2PO_4 - 2,38; K_2HPO_4 - 5,65; MgSO_4 - 1,0; NaCl - 0,5; агар - 10,0; дрожжевой автолизат - 10,0 /500 мг% аминокислот азота/. pH - 6,8-7,0. Среда стерилизовалась при 120° , 15 минут.

Уреазную активность (Manual, 1957) культур определяли путем выращивания их на среде /в г на 1л дистиллированной воды/: KH_2PO_4 - 1,0; K_2HPO_4 - 1,0; NaCl - 5,0; мочевины - 20,0; винный спирт 95° - 10,0; раствор фенол-рота 1% - 2,5 мл.

Стерилизация среды проводилась фильтром Вейтца. Среда разливалась в пробирки и заражалась односуточными культурами. Уреазную активность определяли спустя 30 мин., 2 и 24 часа по степени покраснения среды в результате ее подщелачивания от образовавшегося карбоната аммония.

Для выявления ацетилметилкарбинола /реакция Вогес-Проскауэра/ культуры высевались на среду следующего состава /в г на 1 л дист. воды/: пептон - 7,0; NaCl - 5,0; глюкоза - 5,0. После инкубации в течение 7 суток при 28° к культуре добавлялось равное со средой количество 40% NaOH и несколько кристалликов креатина, что в случае образования ацетилметилкарбинола приводило к появлению красноватого окрашивания.

Способность восстанавливать нитраты в нитриты /реакция денитрификации/ определяли путем выращивания культур на агаризованных досяках на среде с азотнокислым калием и пептоном. На 7-й и 10-е сутки роста культуры к среде добавляли по 5 капель раствора сульфаниловой кислоты (8г) в разбавленной серной

кислоте (1:20) и α -нафтиламина (5г) в разбавленной серной кислоте (1:125). Восстановление нитратов в нитриты сопровождалось появлением розовой или бурой окраски.

Образование индола выявлялось при росте культур на МПБ при добавлении триптофана в количестве 20мг на 1л среды /Gracian, 1961/. Среду разливали в пробирки по 3мл, заражали молодой культурой, спустя 24 часа добавляли 2 капли реактива 1, затем на каждый 1мл бульонной культуры добавляли по капле реактива 2. Появление красного окрашивания свидетельствовало о наличии индола. /Реактив 1: формалин - 1 часть, концентрированная серная кислота - 2 части; Реактив 2: двуххромово-кислый калий - 0,5% в дист.воде/.

Образование сероводорода культурами определялось при выращивании их на среде /в г на 1л дист.воды/: пептон - 20,0; K_2HPO_4 - 2,0; глюкоза - 1,0; агар-агар - 15,0; pH - 6,6-7,0. К среде добавляли 10 мл 2% основного уксуснокислого свинца. Культуры засеивались уколом в разлитую столбиком среду. Степень побурения среды служила показателем интенсивности образования сероводорода.

Способность пептонизировать молоко учитывалась на 5-7-ые сутки.

Амилолитическую способность культур проверяли на среде CP-I /в г на 1л дист.воды/: K_2HPO_4 - 0,5; $MgSO_4$ - 0,5; NaCl - 0,5; $FeSO_4$ - следы; KNO_3 - 1,0; без мела и сахарозы, добавлением 0,05% картофельного крахмала, 0,5% дрожжевого автолизата и 2% агара. Способность гидролизовать крахмал выявлялась раствором Луголя в чашках Петри на засеянных радиальными штрихами культурах. Инкубация длилась 2-3 дня при 27°.

Активность каталазы определялась по появлению пузырьков при выращивании культур в течение 1-2 суток при 37° на МПА с дрожжевым автолизатом и добавлением перекиси водорода в чаш-

ках Петри. Оптимальные условия для роста и биосинтеза лизина изучаемых продуцентов подбирались путем проведения ферментации в условиях Эрленмейеровских колб /250 мл/ на качалках в течение 72 часов на средах следующего состава. (в %):

Среда 1

Глюкоза	- 10
NH_4Cl	- 2,0
MgSO_4	- 0,03
MnCl_2	- 0,01
K_2HPO_4	- 0,5
KH_2PO_4	- 0,05
CaCO_3	- 1,0
FeSO_4	- 0,01

Метионин - 400 мкг/мл
Тreonин - 1000 мкг/мл
Биотин - 10 мкг/мл

Среда 2

Глюкоза	- 10
$/\text{NH}_4/2\text{SO}_4$	- 2,0
MgSO_4	- 0,03
MnCl_2	- 0,01
K_2HPO_4	- 0,5
KH_2PO_4	- 0,05
CaCO_3	- 1,0
FeSO_4	- 0,01

Метионин - 400 мкг/мл
Тreonин - 1000 мкг/мл
Биотин - 10 мкг/мл

Среда 3

Меласса	- 15,0
Кукурузный экстракт (К.Э.)	- 2,0
NH_4Cl	- 1,5
CaCO_3	- 2,0

Среда 5

Меласса	- 15,0
К.Э.	- 2,0
$/\text{NH}_4/2\text{SO}_4$	- 1,5
CaCO_3	- 2,0

Среда 4

Меласса	- 30,0
Кукурузный экстракт (К.Э.)	- 4,0
NH_4Cl	- 3,0
CaCO_3	- 2,0

Среда 6

Меласса	- 30,0
К.Э.	- 4,0
$/\text{NH}_4/2\text{SO}_4$	- 3,6
CaCO_3	- 2,0

Среда 7		Среда 8	
Сахароза	- 10,0	Сахароза	- 10,0
К.Э.	- 4,0	К.Э.	- 4,0
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	- 2,0	NH_4Cl	- 2,0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	- 0,02	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	- 0,02
K_2HPO_4	- 0,2	K_2HPO_4	- 0,2
CaCO_3	- 2,0	CaCO_3	- 2,0

О результатах ферментации судили по следующим показателям, определяемым в динамике через 24,48 и 72 часа; кислотность среды - потенциометрически, титр клеток - нефелометрически, количество лизина - методом бумажной хроматографии и остаточные сахара к концу опыта - методом Шорли.

Посевной материал для ферментаций на синтетических средах (среда 1,2) готовился на среде следующего состава, в %: глюкоза - 2,0, К.Э. - 1,5, гидролизат казеина - 500 мкг/мл. Для проведения ферментаций на средах 3-8 посевной материал выращивался на среде, в %: меласса - 4, к.э. - 1,5, гидролизат казеина - 500 мкг/мл.

Результаты исследований

Изучаемые культуры *M. glutamicus* шт.95,28,8 и *Brevibacterium* шт.22 были подвергнуты морфо-физиологическому исследованию, в результате чего была получена довольно подробная их характеристика.

Micrococcus glutamicus шт.95 - гомосеринзависимый мутант. Культура неспороносная, грамположительная, клетки неподвижные, овальные или слегка продолговатые, чаще соединенные попарно, иногда образующие скопления, размеры: 0,6 - 1,2 x 0,1 - 0,3 мкр. Колонии на МПА: кремовато-матовые, жирно-маслообразные, с гладкими краями, рост хороший. ПБ: хороший рост со слабой пленкой и придонным осадком.

Агаризованная среда Хоттингера : хороший рост, колонии

плотные матовые, светло-желтого цвета, при комнатной температуре приобретают ярко-желтую окраску.

На сусло-агаре рост культуры умеренный, колонии кремовато-матовые, мелкие, с зоной просветления среды.

На ломтике картофеля образуют беловато-серого цвета колонии, гладкие жирно-блестящие, ломтик буреет.

На ломтике моркови наблюдается хороший рост, беловатый, слабо жирноблестящий, края гладкие.

Интенсивно пептонизирует молоко (на 40%) с сильным подкислением.

Воронкообразно разжижает желатину на 10-ые сутки около 50%. Не гидролизует крахмал. Восстанавливает нитраты. Образует уреазу. Не образует каталазу, инвертазу.

Источниками углерода могут служить не все сахара. Хорошо усваивает глюкозу, мальтозу, сахарозу, галактозу, арабитол, инозит и частично рафинозу. Не усваивает: рамнозу, целлобиозу, лактозу, маннит, ксилозу, арабинозу, дульцит, сорбит, глицерин, крахмал.

Хорошо усваивает: фумаровую кислоту, виннокаменную, фталевую, павелевую, лимонную, олеиновую, сульфаниловую; слабее - янтарную, бензойную. Не усваивает - уксусную, стеариновую, винную, салициловую, галловую, нуклеиновую, α -амино- и -напроновую. Факультативный аэроб, оптимум роста в пределах 27-32°.

Micrococcus glutamicus шт.8

Культура неспороносная, грамположительная, гомогенные клетки слабо подвижные, кокковидные, овальные, чаще соединенные попарно, встречаются скопления по 3-4 клетки, размеры 1,3-2,1 x 1,1-1,3 мкр.

Колонии на МПА кремово-матовые с гладкими краями. ПВ: хороший рост, слабая муть с придонным осадком. На ломтике картофеля образует мелкозернистые сероватые колонии с влажно-блестящей поверхностью.

Восстанавливает нитраты, не разжижает желатину, не гидролизует крахмал. Обнаружены уреазы и каталазы, инвертазы отсутствуют. Не образует сероводорода и индола, восстанавливает

Рост *Micrococcus glutamius* шт. 95, 8, 28 и биосинтез лигнина

Таблица I

Показатели	Время ферментации, час	Ферментационные среды							
		I	2	3	4	5	6	7	8
Титр клеток, $\times 10^9$ /мл Лизин, г/л		<i>Micrococcus glutamius</i> шт. 95							
	24	5,7	6,6	3,5	6,3	4,5	7,1	8,2	6,8
	48	6,0	6,8	6,0	7,7	7,4	6,8	10,6	8,2
	72	6,6	7,4	8,2	9,2	7,1	6,6	12,9	10,6
	24	2,0	6,9	7,3	7,7	9,7	8,9	10,0	9,3
	48	2,7	7,2	21,9	20,8	26,0	25,5	28,0	9,1
	72	3,3	11,8	16,5	23,0	26,0	23,0	25,5	19,4
Титр клеток, $\times 10^9$ /мл Лизин, г/л		<i>Micrococcus glutamius</i> шт. 8							
	24	5,7	6,6	3,5	6,4	4,3	7,1	8,2	6,9
	48	6,0	6,8	7,8	7,5	6,8	11,0	8,2	
	72	6,8	7,4	8,2	9,5	7,1	6,6	12,9	10,8
	24	2,0	6,9	7,3	8,0	8,5	8,1	9,8	9,3
	48	2,7	6,0	21,0	22,0	27,0	24,6	28,2	27,0
	72	3,3	1,8	16,5	23,0	27,0	23,0	25,0	21,0

Продолжение таблицы I

Показатели	Время ферментации, час	Ферментационные среды							
		I	2	3	4	5	6	7	8
Титр клеток, $\times 10^9$ /мл	24	4,5	3,3	4,5	4,6	4,6	5,2	6,6	6,3
	48	4,6	4,6	5,2	5,5	5,2	5,5	7,1	6,8
	72	4,1	4,6	5,7	7,1	6,0	6,6	9,8	9,0
Дрожь, г/л	24	8,0	4,7	8,9	9,3	9,7	9,7	8,1	8,9
	48	12,8	6,3	25,5	25,7	25,5	23,7	35,7	37,0
	72	12,0	8,0	32,2	38,5	40,5	37,0	43,0	53,2

Micrococcus glutamicus № 28

метиленовую синь. Не образует ацетилметилкарбинол. Из сахаров усваивает: арабинозу, глюкозу, фруктозу, галактозу, маннозу, сахарозу, мальтозу; не усваивает: рамнозу, ксилозу, рафинозу, инулин, маннит, сорбит, дульцит. Усваивает лимонную и уксусную кислоты.

Micrococcus glutamicus шт.28 - гомосеринзависимый мутант. Культура неспороносная, грамположительная, клетки гомогенные, иногда слабо зернистые, слегка подвижные, эллипсоидные, иногда удлинённые, чаще одиночные или соединены попарно. Размеры: $1,9 - 2,3 \times 1,0 - 1,3$ мкр. Колонии на МПА: кремовато-матовые с гладкими краями. На ПВ дает хороший рост, слабую пленку и муť с придонным осадком. На агаризованной среде Хоттингера культура образует плотные, матовые, светло-желтые колонии. На ломтике картофеля - колонии с гладкой кремовато-блестящей поверхностью. Восстанавливает нитраты, не разжижает желатину, не гидролизует крахмал. Обнаружены уреазы и каталазы, не обнаружена инвертаза. Культура не образует индола, сероводорода и ацетилметилкарбинола. Восстанавливает метиленовую синь. Из углеродных источников усваивает - глюкозу, фруктозу, галактозу, маннозу, сахарозу, мальтозу, лимонную и уксусную кислоты. Не усваивает арабинозу, рамнозу, ксилозу, лактозу, рафинозу, инулин, маннит, сорбит, дульцит.

Brevibacterium шт.22 - гомосериннедостаточный мутант. Культура неспороносная, грамположительная. Клетки эллипсоидные, чуть удлинённые, встречаются и шаровидные, по структуре - слабо зернистые, неподвижные, чаще соединённые попарно, встречаются и одиночные. Размеры: $1,3 - 3,5 \times 1,3 - 1,9$ мкр. На МПА культура дает хороший рост, образуя кремово-матовые колонии с гладкими краями. На ПВ наблюдается хороший рост со слабым образованием муť и придонного осадка. На ломтике картофеля культура образует кремовые, влажно-блестящие, гладкие колонии. Восстанавливает нитраты, не разжижает желатину, не гидролизует крахмал. Инвертаза не обнаружена. Обладает уреазной и

каталазной активностью. Индол, сероводород и ацетилметилкарбонил не образует, восстанавливает метиленовую синь. Из углеродных источников усваивает глюкозу, фруктозу, галактозу, маннозу, сахарозу, мальтозу, уксусную и лимонную кислоты. Не усваивает арабинозу, рамнозу, ксилозу, лактозу, рафинозу, инулин, маннит, сорбит, дульцит.

С целью выявления наиболее продуктивного по биосинтезу лизина штамма нами была поставлена серия опытов по подбору наиболее оптимальной питательной среды для ферментации *Micrerosococcus glutamicus* шт.8,95. Как уже указывалось выше, опыты ставились на 2-х вариантах сред - синтетических и средах с меласой и кукурузным экстрактом.

В результате проведенных опытов были отмечены некоторые закономерности в развитии продуцентов на различных питательных средах. Так, при проведении ферментаций на синтетических средах, где источником углерода была глюкоза, а источником азота - хлористый или сернокислый аммоний, у всех трех культур наблюдалось довольно быстрое подкисление среды. К 6-8 часам ферментации значение pH с 7,5 падало до 5,5 и, если среда не подщелачивалась в процессе ферментации, выхода лизина фактически не было. Следует отметить, что титр клеток в опытах с *M. glutamicus* шт.95 при таком низком значении pH был также чрезвычайно низким. В ферментациях с *M. glutamicus* шт.8 и 28 титр клеток нарастал и в конце мало отличался от вариантов, где проводилось подщелачивание среды 40% NaOH до pH - 7,5.

Таким образом, уровень кислотности среды при проведении ферментаций на синтетических средах оказывает большое влияние на биосинтез лизина. Для всех трех культур оптимум pH лежит в одних и тех же пределах 7-8, ниже и выше которых нарушается рост и процесс лизинообразования. Быстрое подкисление при ферментации на синтетических средах требует подщелачивания через каждые 6-8 часов.

При проведении ферментаций на средах с кукурузным экстрактом и меласой, обладающей, по-видимому, высокой буферностью, мы

не наблюдали столь быстрого и резкого изменения pH по ходу ферментации. Подкисление среды начиналось лишь к концу ферментации, между 60–72 часами. Предположение о том, что именно меласса обладает буферностью, подтверждалось опытами, в которых меласса заменялась сахарозой.

Характер изменения pH в этих случаях по ходу ферментации у всех культур был подобен характеру изменения кислотности при ферментации на синтетических средах.

Micrococcus glutamicus шт.95. В таблице I представлены данные по характеру ферментации *M. glutamicus* шт.95 на разных средах. При ферментации *M. glutamicus* шт.95 на синтетических средах (1,2) процесс лизинообразования был несколько активнее, чем в случае использования других двух культур. Процесс образования лизина при ферментации на синтетических средах был растянут во времени и достигал максимума лишь к 72 часу. Однако уровень биосинтеза лизина был невысок и не превышал 12–14 г/л. Значительно активнее лизинообразование у *M. glutamicus* шт.95 проходило на средах с мелассой и кукурузным экстрактом (3,4,5,6) и средах с сахарозой и кукурузным экстрактом (7,8). В некоторых вариантах опыта выход лизина достигал 29 г/л, титр клеток в этих случаях не превышал $10-12 \times 10^9$ кл/мл.

Micrococcus glutamicus шт.8. Как видно из данных, представленных в таблице, при ферментации *M. glutamicus* шт.8 на синтетической среде с хлористым аммонием в качестве источника азота, биосинтез лизина был чрезвычайно низким (2–3,5 г/л).

Замена хлористого аммония сернокислым привела к некоторому ускорению процесса образования лизина, который заканчивался фактически к 24 часам ферментации. По ходу процесса ферментации в этом случае накапливались, кроме лизина, глутаминовая кислота и треонин.

Биосинтетическая активность *M. glutamicus* шт.8 заметно повышалась при использовании сред с мелассой и кукурузным экстрактом. На всех вариантах этих сред, в том числе и на среде с сахарозой взамен мелассы, процесс образования лизина протекал значительно интенсивнее и достигал своего максимума уже

к 48 часам ферментации, в то время как титр клеток продолжал несколько нарастать. С увеличением процента мелассы в среде биосинтез лизина усиливался так же, как и при замене хлористого на сернокислый аммоний. Еще больше активировался биосинтез лизина при ферментации на средах, где мелассу заменяли сахарозой (10%); выход лизина в этом случае достигал 29 г/л при полном отсутствии глутаминовой кислоты. Таким образом, наиболее оптимальными средами для биосинтеза лизина *M.glutamicus* шт.8, по нашим данным можно считать среды 7 и 8, где вместо мелассы использовалась сахароза. Процесс образования лизина в этих вариантах заканчивался к 48 часам, что значительно сокращало сроки ферментации.

Micrococcus glutamicus шт.28. При ферментации *M.glutamicus* 28 на синтетических средах (1,2) к 24 часам ферментации накапливается лишь глутаминовая кислота, количество которой уменьшается к концу ферментации. В целом биосинтез лизина на синтетических средах протекает у этой культуры слабо, не превышая 12-14 г/л, а в случае использования сульфата аммония вместо хлористого аммония уровень лизина еще снижается (6-8г/л).

При ферментации *M.glutamicus* шт.28 на средах (3,4,5,6) с мелассой и кукурузным экстрактом процесс лизинообразования резко активизируется, к 48 часам ферментации его количество достигает 25-27 г/л, а к 72 часу - 32-38 г/л. Увеличение процента мелассы в среде повышает уровень биосинтеза лизина. Замена мелассы на сахарозу в среде стимулировала процесс лизинообразования, уровень которого достигал 35 г/л, а к концу - 42-55 г/л. Минимальный титр клеток во всех вариантах опыта наблюдался нами к 24 часу ферментации и незначительно возрастал к 48 и 72 часам. Кривая накопления лизина в опытах коррелировала с нарастанием биомассы.

Проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Все изученные культуры - продуценты лизина, являются мутантами с нарушенным обменом веществ, направленным в сторону биосинтеза лизина. Причем уровень лизинообразования контроли-

руется у них содержанием в среде метионина и треонина.

2. В работе представлена характеристика морфо-физиологических и культуральных особенностей *Micrococcus glutamicus* шт. 95,8,28 и *Brevibacterium* шт.22.

3. Уровень биосинтетической активности у *M. glutamicus* шт. 95,8,28 зависит от состава и кислотности среды.

4. При ферментации *M. glutamicus* шт. 95,8,28 на синтетических средах, подкисление среды происходит через 6-8 часов, что отрицательно сказывается на процессе лизинообразования без усреднения культуральной жидкости.

5. При ферментации на средах с мелассой и кукурузным экстрактом, благодаря буферности мелассы подкисление к.к. в процессе ферментации происходит лишь к концу процесса.

6. Наибольший уровень биосинтеза лизина *M. glutamicus* шт. 28 был получен в опытах с использованием сред с мелассой и кукурузным экстрактом и особенно на средах, где меласса заменялась сахарозой /10,0%/.
165-86 (404)

7. Максимальный выход лизина у культуры *M. glutamicus* шт.8 наблюдался на средах с сахарозой и кукурузным экстрактом, а также с сульфатом аммония в качестве источника азота.

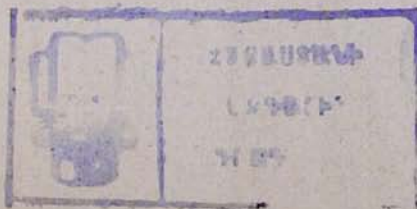
8. Оптимальной ферментационной средой для культуры *M. glutamicus* шт.95 является среда с сахарозой вместо мелассы и кукурузным экстрактом с NH_4Cl в качестве источника азота.

Չ.Վ.Մարշալեան, Մ.Գ.Սալանյան, Է.Ա.Մարտյան

ԼԻԶԻՆԵ ԱՐՅԱՊԱՂՈՂ ԲԱԿՏԵՐԻԱԼԵՐԻ ՄՈՐՓ-ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ
ՍՈՒՇԵՑԱԿԱՆ ԿՈՒՅԹՈՒՆԵՐԸ ՈՒ ԿՈՒՆՏՐՎԱԾՄԱՆ ՈՐՈՇ ՊԱՅ-
ՄԱՆԵՐԸ

Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ն Մ

Եկառագրված են Լիզին արտադրող կոնսոկրաների (*Micro-*
coccus glutamicus 95,28,8; *Brevibacterium* 22) մորֆո-
ֆիզիոլոգիական առանձնահատկությունները և ֆերմենտացիայի



ընթացքը՝ կախված կուլտուրալ միջավայրի կազմից:

Տարված ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ ֆերմենտացիայի ժամանակ սինթետիկ սննդամիջավայրում նկատվում է միջավայրի արագ թրվեցում, որը բացասականորեն է անդրադառնում լիզինի բիոսինթեզի ընթացքի վրա: Ֆերմենտացիայի պրոցեսում մեխանիզմներն ունենալով բուֆերային հատկություն, կասեցնում է կուլտուրալ միջավայրի արագ թրվեցումը:

Մասցված ալյալների համաձայն առաջարկված են Օպտիմալ միջավայրեր՝ լիզին արտադրող յուրաքանչյուր կուլտուրայի համար:

Z.V.Marshavina, S.G.Aslanian, E.A.Marcian

MORPHO-PHYSIOLOGICAL PROPERTIES AND SOME CULTIVATION CONDITIONS OF LYSINE PRODUCING STRAINS.

S u m m a r y

The characteristics of morpho-physiological properties of lysine producing strains of *M. glutamicus* and *Brevibacterium* have been presented. The fermentation processes with connection of the composition of nutritional media have been studied. As the result of these investigations the most favourable media for the biosynthesis of lysine with tested bacterial cultures have been proposed.