

МИКРОБИОЛОГИЯ

Н. С. ПЕЧУРКИН, А. Н. ШКИДЧЕНКО

**ЯВЛЕНИЕ АУТОСТАБИЛИЗАЦИИ ФАКТОРОВ,
ОГРАНИЧИВАЮЩИХ РОСТ МИКРОБНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ
В ОТКРЫТЫХ СИСТЕМАХ**

(Представлено академиком Е. Н. Мишустиним 25 XI 1975)

Как объект исследований микробные популяции занимают особое место по возможности использования точного количественного анализа взаимодействия популяции и среды (¹⁻³). В настоящей работе обсуждается эффект аутостабилизации различного рода факторов, ограничивающих рост микробных популяций, развивающихся в открытых системах при периодическом и непрерывном культивировании.

Для количественного исследования и управления кинетикой микробного роста необходимо уметь выделять регулирующий фактор среды — лимитирующий или ингибирующий — из большого числа действующих.

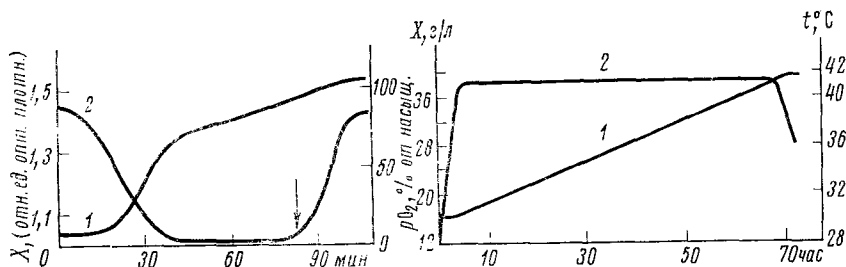


Рис. 1

Рис. 2

Рис. 1. Лимитирование роста дрожжевой популяции недостатком растворенного кислорода. (Стрелкой отмечен переход к лимитированию по глюкозе.) 1 — концентрация биомассы (X), 2 — содержание растворенного кислорода (⁴)

Рис. 2. Динамика роста дрожжей в режиме аутотермостатирования. 1 — концентрация биомассы (X), 2 — температура культуры (⁵)

Ограничение роста популяций любых организмов имеет всеобщий характер. Особенно заметно оно проявляется на микробных популяциях. Общеизвестны гипотетические расчеты, согласно которым при неограниченном размножении микроорганизмы способны в считанные дни и часы заполнить всю Землю, Солнечную систему и пр. Несмотря на избыточную эмоциональность, такие данные приводят к правильной мысли о существовании сильного ограничения, противостоящего процессам размножения. Наличие постоянного противоборства живого и «косного» компонентов и приводит к стабилизации результирующей величины ограничивающего фактора. Рассмотрим некоторые конкретные примеры развития микробных культур. На рис. 1 хорошо заметна зона устойчивого сохранения концентрации растворенного кислорода — pO_2 при лимитировании роста дрожжей недостатком кислорода (⁴). При этом величина X — концентрация биомассы — изменяется существенно. Переход к лимитированию

по другому фактору — глюкозе приводит к резкому возрастанию величины pO_2 .

На рис. 2 представлены данные по культивированию дрожжей в режиме аутотермостатирования ⁽⁵⁾. Особенность этого режима в том, что в результате выделения тепла при метаболизме культуры температура культуральной среды поднимается до определенного уровня и стабилизируется на этом уровне, ограничивая рост популяции. При этом изменяются величины X и μ (удельная скорость роста), содержание белка, свободных аминокислот и пр. Только величина ограничивающего рост фактора остается неизменной в течение значительного промежутка времени (более 60 час.).

В описанных примерах речь шла о периодических (непроточных) культурах, где возможна аутостабилизация только тех факторов, величины которых зависят от метаболизма культуры и обмена с внешней средой. Помимо рассмотренных, к таким же результатам должны приводить ограничения скорости роста летучими метаболитами различной природы, углекислым газом при росте автотрофов, освещенностью при росте фототрофных микроорганизмов и т. д.

Особые возможности стабилизации величины ограничивающего фактора проявляются при непрерывном культивировании, при котором происходит обмен потоков всех элементов с внешней средой. Рассмотрим основные уравнения элементарной теории хеомстата ⁽¹⁾:

$$dX/dt = \mu X - DX; \quad dS/dt = DS_0 - DS - 1/Y \mu X;$$

$$\mu = \mu(S) = \frac{\mu_m S}{K_s + S},$$

где X — концентрация клеток (биомассы), S — концентрация лимитирующего рост субстрата в среде, окружающей клетки, S_0 — концентрация этого же субстрата в питающей среде, D — скорость разбавления культуры, μ — удельная скорость роста микроорганизмов (μ_m — ее максимальная величина), Y — коэффициент утилизации субстрата, K_s — константа лимитирования.

Здесь связь между скоростью роста и концентрацией лимитирующего субстрата выражена формулой Моно ⁽¹⁾.

Из условия стационарности можно получить соотношение $\mu = D = \mu_m S / (K_s + S)$, откуда выводится условие $S = K_s D / (\mu_m - D)$.

Таким образом, установившаяся (при заданном значении D) величина лимитирующего фактора не зависит ни от концентрации подающегося субстрата, ни от концентрации биомассы, причем такой вывод относится к любой форме связи между μ и S .

Экспериментальные данные ⁽⁶⁾ по аутостабилизации, лимитирующей рост концентрации глюкозы в проточной культуре *Candida utilis*, представлены на рис. 3. Отчетливое проявление аутостабилизации концентрации метанола, лимитировавшего рост *Pseudomonas C*, можно проследить по экспериментальным данным, полученным при оптимизации условий проточного культивирования ⁽⁷⁾. Сходные результаты получаются при изучении влияния других факторов, ограничивающих рост проточной культуры. Равновесная величина такого фактора определяется кинетическими характеристиками штамма и скоростью потока (активностью культуры, так как $D = \mu$). Например, при ингибировании скорости роста продуктами метаболизма и при внешней подаче ингибитора с концент-

рацией P_0 установившаяся концентрация P не зависит от X , P_0 :

$$P = K_p \frac{\mu_m - D}{D},$$

где K_p — константа ингибирования по уравнению Иерусалимского.

Аналогично проявляется аутостабилизация концентрации растворенного кислорода (при лимитировании pO_2), температуры в культиваторе при торможении роста температурой, величины рН при ограничении роста рН и т. д. Во всех этих случаях величина регулирующего фактора стремится к удержанию на постоянном уровне. Естественно, что это возможно только до определенного предела, пока именно данный фактор

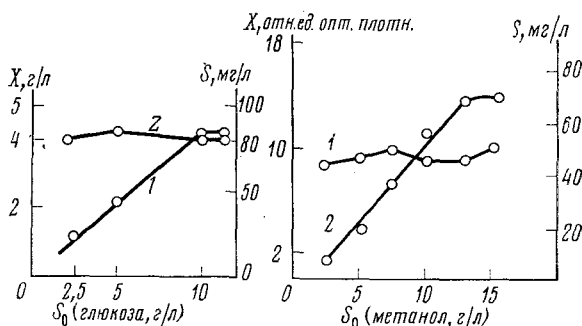


Рис. 3

Рис. 4

Рис. 3. Эффект аутостабилизации концентрации глюкозы как фактора, лимитирующего рост проточной культуры *C. utilis* при скорости потока $D=0,25$ час⁻¹. 1 — концентрация биомассы (X), 2 — концентрация глюкозы в культуре (S). На абсциссе — концентрация глюкозы в подающей среде (S_0)

Рис. 4. Проявление эффекта аутостабилизации концентрации метанола, лимитирующего рост *Pseudomonas C* в проточной культуре при $D=0,35$ час⁻¹. 1 — концентрация биомассы (X), 2 — концентрация метанола в культуре (S). На абсциссе — концентрация метанола в подающей среде (S_0)

ограничивает скорость роста и не произошел переход к другому регулирующему фактору. После такого перехода фактор, ранее лимитировавший процесс, перестает быть устойчивым и теперь стремится к стабилизации величины нового лимитирующего фактора.

Эффект аутостабилизации можно выразить количественно, введя коэффициент аутостабилизации как отношение изменения величины фактора в подающей среде к соответствующему изменению его равновесной величины в культуре. Для лимитирующего рост субстрата K_{ac} имеет вид

$$K_{ac} = \frac{S_{0 \max} - S_{0 \min}}{S_{\max} - S_{\min}}.$$

По приведенным примерам величины K_{ac} по метанолу и глюкозе превышают 10^3 . По фосфору и азоту (⁸) значения K_{ac} превышают 10^2 . Следовательно, эффект аутостабилизации выражен очень сильно и его нельзя не учитывать при использовании процессов культивирования как в лабораторных, так и в промышленных условиях. Например, неучет явления аутостабилизации концентрации растворенного кислорода в ферментере может приводить к безуспешным (но дорогим для промышленных масштабов) попыткам устанавливать на требуемом уровне величину pO_2 в культуре, изменяя интенсивность перемешивания.

Для природных популяций явление аутостабилизации также существенно, так как эти биологические системы в своей основе являются открытыми и лимитированными.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
Академии наук СССР
Пушино Московской обл.

Поступило
25 XI 1975

Институт физики им. Л. В. Киренского
Сибирского отделения Академии наук СССР
Красноярск

ЛИТЕРАТУРА

¹ H. Moser, The Dynamics of Microbial Populations Maintained in the Chemostat, Washington, 1958. ² Н. С. Печуркин, И. А. Терсков, Автоселекционные процессы в непрерывной культуре микроорганизмов, Новосибирск, 1973. ³ Н. С. Печуркин, И. А. Терсков, Анализ кинетики роста и эволюции микробных популяций (в управляемых условиях), Новосибирск, 1975. ⁴ Н. С. Печуркин, Микробиол. пром., т. 5, 1 (1973). ⁵ А. Н. Шкидченко, Л. В. Гурина и др., Микробиология, т. 43, 2, 281 (1974). ⁶ А. Н. Шкидченко, Микробиология, т. 44, 2, 228 (1975). ⁷ R. I. Matelles, E. Battat, Appl. Microbiol., v. 28, 6, 901 (1975). ⁸ А. Н. Шкидченко, В. А. Никитин, Микробиология, т. 44, 4, 681 (1975).