

УДК 577.359

ВЛИЯНИЕ МОДИФИКАЦИИ ИЗОТОПНОГО СОСТАВА СРЕДЫ НА РОСТ И МЕТАБОЛИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ *Rhodococcus* и *Saccharomyces*

© 2020 г. Н. Н. Волченко*, А. А. Самков*, В. В. Мальшко**, ***, А. А. Худокормов*,
А. В. Моисеев****, А. А. Елкина*, ***, @, М. Г. Барышев*, ***, С. М. Першин*****

*Кубанский государственный университет, ул. Ставропольская, 149, Краснодар, 350040 Россия

**Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, ул. Седина, 4, Краснодар, 350063 Россия

***ФИЦ Южный научный центр РАН, просп. Чехова, 41, Ростов-на-Дону, 344006 Россия

****Кубанский государственный аграрный университет, ул. Калинина, 13, Краснодар, 350004 Россия

*****Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, ул. Вавилова, 38, Москва, 119991 Россия

@E-mail: 013194@mail.ru

Поступила в редакцию 11.03.2019 г.

После доработки 08.08.2019 г.

Принята к публикации 29.08.2019 г.

Определены уровень продукции CO₂ и динамика прироста биомассы бактерий *Rhodococcus erythropolis* VKM Ac2017D (Россия) и дрожжей штамма *Saccharomyces cerevisiae* OenofermC2 (Франция) в средах культивирования с по-разному сниженной (от 10 до 150 ppm) концентрацией дейтерия. В средах с концентрацией дейтерия 50 ppm и менее выявлен наибольший прирост биомассы родококков. Отмечено, что продукция CO₂ как интегральный показатель биологической активности клеток более выражена у родококков по сравнению с дрожжами. Обнаружено, что при в целом схожей динамике кривых выделения CO₂ прокариоты проявили более широкую временную динамику его продукции.

DOI: 10.31857/S000233292004013X

Изотопный состав среды оказывает существенное влияние на жизнедеятельность филогенетически отдаленных организмов (Gorokhova, 2017; Pershin *et al.*, 2017; Шихлярова и др., 2018; Kolesnichenko *et al.*, 2018; Nacu *et al.*, 2018; Syroeshkin *et al.*, 2018), так как сверхнизкие концентрации тяжелых нерадиоактивных изотопов биогенных элементов (²H, ¹³C, ¹⁵N, ¹⁷O, ¹⁸O и др.) способны воздействовать на функциональную активность биологических молекулярных систем (Чернуха и др., 2016; Koltover *et al.*, 2016; Letuta, Avdeeva, 2017). В биообъектах особый интерес представляет исследование эффектов, вызванных изменением в среде соотношения D/H, формируемого парой изотопов с сильно различающимися массами и широко распространенными в живых системах (Kirkina *et al.*, 2014; Xie, Zubarev, 2014; O'Brien, 2015; Dzhimak *et al.*, 2018; Kosenkov *et al.*, 2018; Lobyshev, 2018; Basov *et al.*, 2019). Благодаря современным высокоэффективным методам получения обедненной дейтерием воды (ректификация воды в колоннах (Тхет Мью Аунг, Селиваненко, 2017; Александров и др., 2018), метод электролитического разделения (Барышев и др., 2013), диффузия водорода через палладиевые мембраны (Petriev *et al.*, 2018a, b)) эти исследования получили широкое

распространение. Известно, что ион водорода — ключевой элемент энергетического метаболизма любой клетки, осуществляющей окислительное фосфорилирование, поскольку формирование трансмембранного градиента протонов является важнейшим фактором функционирования АТФ-синтазы.

Объекты исследования выбирали с учетом результатов сравнения способности прокариотических и эукариотических организмов адаптироваться к модификации изотопного D/H-состава среды культивирования, ориентируясь, в частности, на значительную эволюционную отдаленность *Saccharomyces cerevisiae* и *Rhodococcus erythropolis*. Этот фактор в контексте энергетического метаболизма подразумевает у них принципиально разную локализацию клеточных структур, участвующих в создании трансмембранного градиента протонов, который необходим для функционирования АТФ-синтазы. При этом у бактерий этот градиент формируется на цитоплазматической мембране и ее производных, а у дрожжевых грибов — на внутренней мембране митохондрий.

Цель исследования — оценка уровня продукции CO₂ и динамики роста биомассы прокариот

Таблица 1. Оптическая плотность клеточных суспензий микроорганизмов в процессе роста на жидких питательных средах с различным изотопным составом

D, ppm $M \pm m$	1-е сут		4-е сут		9-е сут	
	<i>S</i>	<i>R</i>	<i>S</i>	<i>R</i>	<i>S</i>	<i>R</i>
10	2.16 ± 0.053	0.12 ± 0.003	2.23 ± 0.067	1.72 ± 0.043*	2.43 ± 0.049	1.88 ± 0.039*
50	2.19 ± 0.048	0.10 ± 0.003	2.27 ± 0.045	1.89 ± 0.040*	2.38 ± 0.061	1.80 ± 0.037*
100	2.20 ± 0.062	0.12 ± 0.004	2.25 ± 0.056	1.29 ± 0.023*	2.34 ± 0.047	1.34 ± 0.034*
150	2.19 ± 0.045	0.11 ± 0.002	2.28 ± 0.048	1.41 ± 0.035	2.39 ± 0.053	1.62 ± 0.049

Примечание. * – $p < 0.05$ по сравнению с группой 150 ppm (*S* или *R*) в соответствующие сутки, *S* – *Saccharomyces cerevisiae* OenofermC2; *R* – *Rhodococcus erythropolis* VKMAc2017D.

(бактерий *R. erythropolis* VKM Ac2017D, Россия) и эукариот (дрожжей штамма *S. cerevisiae* OenofermC2, Франция) в средах культивирования с различной концентрацией дейтерия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Культивирование микроорганизмов осуществляли в жидких минеральных средах с конечными концентрациями дейтерия 10, 50, 100 и 150 ppm. В качестве единственного субстрата углерода и энергии использовали сахарозу (146 мМ) (Samkov *et al.*, 2015). Инокуляцию сред биомассой родококка осуществляли до концентрации, соответствующей оптической плотности 0.10–0.12 усл. ед. ($(5.0–5.9) \times 10^7$ КОЕ/мл), инокуляцию сахаромикетами до концентрации, соответствующей оптической плотности 2.16–2.20 усл. ед. ($(2.1–2.9) \times 10^8$ КОЕ/мл), проводили с учетом рекомендуемых производственных инструкций культивирования исследуемого штамма *S. cerevisiae* OenofermC2 (Belo *et al.*, 2003; <http://www.krolsan.com.pl/krolsan/enzymy2/spir/oenofermc2.pdf>). Продукцию CO₂ регистрировали с помощью цифрового датчика газобразной углекислоты CO₂-ВТА (Vernier, США), динамику роста микроорганизмов – по оптической плотности клеточных суспензий при длине волны 670 нм на спектрофотометре Leki SS2107 (Финляндия). Содержание CO₂ измеряли ежедневно с 1-х по 9-е сут, оптическую плотность измеряли на 1-, 4- и 9-е сут. Экспериментальные сосуды с культурой дрожжей находились в неподвижном состоянии при температурном оптимуме $38.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$, с культурой бактерий – в условиях встряхивания на орбитальном шейкере (120 об./мин) при оптимальной для данного штамма температуре $25.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$. Воду с пониженным содержанием дейтерия получали на установке ЛВ-1 в бизнес-инкубаторе Кубанского государственного университета. Концентрацию дейтерия в полученной воде определяли (три повтора для каждого образца) на импульсном ЯМР-спектрометре JEOL JNM-ECA 400 MHz (Япония) (Dzhimak *et al.*, 2015).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены результаты измерения оптической плотности клеточных суспензий микроорганизмов в процессе роста на жидких питательных средах с различным изотопным составом. Максимальный прирост концентрации клеточной биомассы родококков к 4-м сут роста был отмечен на среде с содержанием дейтерия 50 ppm, что могло быть обусловлено ускоренным прохождением цикла роста в периодической культуре с некоторым его замедлением на 9-е сут. Минимальный рост на протяжении всего периода культивирования наблюдался на среде с концентрацией дейтерия 100 ppm. Наибольший рост *R. erythropolis* VKM Ac2017D был обнаружен в средах с концентрацией дейтерия 50 ppm и менее, что могло быть опосредовано более благоприятными условиями их метаболизма при данном изотопном D/H-соотношении (O'Brien *et al.*, 2014; Xie, Parmon, 2015; Zubarev, 2015). Полученные данные соответствуют математической модели, описывающей результаты разных авторов (Xie, Zubarev, 2015; Gorokhova, 2017):

$$f(x) = \begin{cases} 100\% + A \sin\left(\frac{\pi x}{150}\right), & x \in [0, 150], \\ 100\% + B \sin\left(\frac{\pi}{150}(x - 150)\right), & x \in [150, 300], \\ 100\% - \frac{\pi B}{150}(x - 300), & x \in [300, C], \end{cases}$$

где $B > A$, $C = \frac{1.5 \times 10^4}{\pi B} + 300\%$.

Продукция CO₂ как интегральный показатель биологической активности клеток была более выражена у родококков по сравнению с таковой у дрожжей. Пик продукционной активности углекислоты у *R. erythropolis* был отмечен на 2-е–3-и сут роста с дальнейшим постепенным его снижением к 9-м сут (рис. 1), а для *S. cerevisiae* нарастание выделения CO₂ завершалось к 4-м–5-м сут с его снижением к 7-м сут и последующим вторичным повышением газовой выделенности (рис. 2).

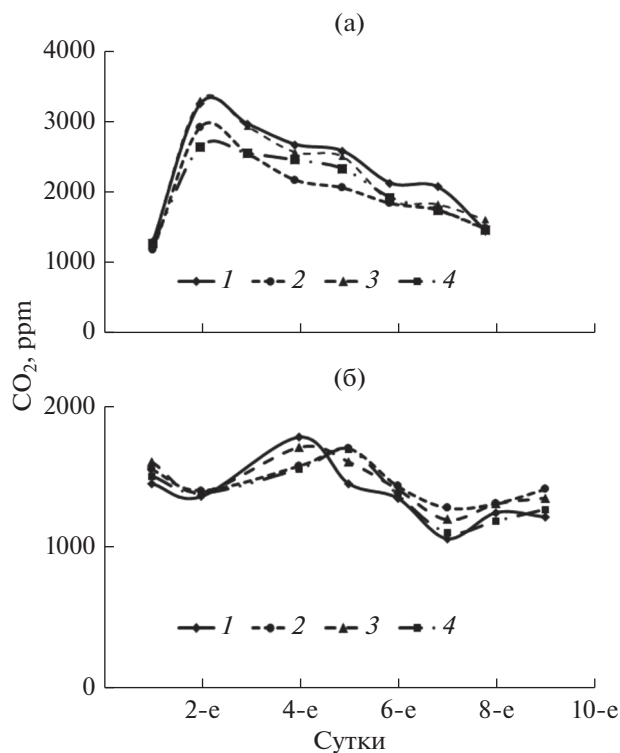


Рис. 1. Динамика содержания CO₂ в газовой фазе сосуда культивирования при росте *Rhodococcus erythropolis* VKM Ac2017D (а) и *Saccharomyces cerevisiae* (б) при различных концентрациях дейтерия 10, 50, 100, 150 ppm (1–4 соответственно).

Наблюдаемые особенности объясняются тем, что период снижения продукции CO₂ соответствует наступлению стационарной фазы. При этом два пика продукции углекислоты у дрожжей могут быть связаны с более сложным характером катаболизма углеводов данными организмами. При достаточном количестве кислорода и наличии углеводного субстрата в среде родококки и дрожжи выделяют CO₂ и демонстрируют прирост биомассы за счет окислительного декарбоксилирования пирувата и работы цикла трикарбоновых кислот. В то же время при недостатке конечного акцептора электронов дрожжи в отличие от родококков могут участвовать в процессе брожения, прежде всего спиртового, в результате которого под действием пируватдекарбоксилазы также образуется CO₂. Динамика концентрации CO₂ в газовой фазе сосуда культивирования показана на рис. 1 и 2.

Также следует отметить, что при в целом сходной форме динамики кривых выделения CO₂ (для родококков логарифмические функции находились в диапазоне от $y_{\min} = 1.17\ln(x) + 0.22$, $R^2 = 0.89$ до $y_{\max} = 1.66\ln(x) + 0.27$, $R^2 = 0.84$, для сахаромидетов — от $y_{\min} = 0.12\ln(x) + 2.19$, $R^2 = 0.90$ до $y_{\max} =$

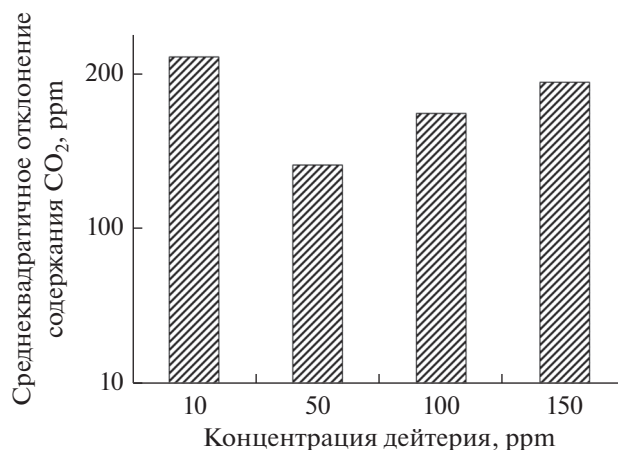


Рис. 2. Среднеквадратичное отклонение содержания CO₂ в газовой фазе сосуда культивирования при росте *Saccharomyces cerevisiae* OenofermC2 при различных концентрациях дейтерия.

$= 0.23\ln(x) + 2.14$, $R^2 = 0.83$) в течение ростового эксперимента прокариоты проявили более высокую вариабельность его продукции согласно данным среднеквадратичного отклонения содержания CO₂ в газовой фазе сосуда, показатели которого у дрожжей были ниже на 61.9–74.5% (рис. 3).

Это отличие, на наш взгляд, обусловлено более совершенными механизмами адаптации эукариотических дрожжевых микроорганизмов *S. cerevisiae* к вариациям изотопного D/H-состава среды по сравнению с таковыми у прокариотических клеток *R. erythropolis*. Для обоих исследуемых микроорганизмов была характерна более активная продукция CO₂ в фазу логарифмического роста в средах с концентрацией дейтерия 10 ppm, чем в средах с концентрациями 50, 100, 150 ppm.

Для сравнительной оценки динамики роста на каждом этапе рассчитывали удельную скорость роста микроорганизмов (μ , ч⁻¹) по формуле (Перт, 1978) $\mu = 2.3(\lg X_i - \lg X_0)/(t_i - t_0)$, где X_i и X_0 — концентрации клеток в моменты времени t_i и t_0 соответственно. При этом удельная метаболическая активность, принятая в 1-е сут эксперимента у обоих микроорганизмов за 100%, у прокариот последовательно снижалась в течение всего эксперимента и составляла на 4-е сут 11–21% (соответственно $\mu = 0.0330$ – 0.0408 ч⁻¹), а на 9-е сут 7–11% (соответственно $\mu = 0.0003$ – 0.0012 ч⁻¹), что отражало постепенное замедление биохимических процессов по мере перехода из лаг-фазы в фазу экспоненциального роста, далее в стационарную и фазу отмирания. У *S. cerevisiae* аналогичный показатель характеризовался отсутствием отрицательной динамики на 4-е сут (98–119% или $\mu = 0.0003$ – 0.0006 ч⁻¹) и достаточно постепенным снижением на 9-е сут (75–84% или $\mu = 0.0003$ –

0.0007 ч⁻¹). Это свидетельствует о менее резких колебаниях метаболической активности в зависимости от концентрации клеток.

Сверхнизкую концентрацию дейтерия в среде следует рассматривать как стрессовый фактор, в данном случае влияющий на сопряжение начальных этапов катаболизма сахаров (что характерно для обоих видов микроорганизмов (гликолиз)), а также на образование АТФ. В качестве показателя дисбаланса живой системы оценивали среднеквадратичное отклонение концентрации CO₂, существенно зависящее от уровня эволюционной организации исследуемых микроорганизмов при их культивировании в средах с различным изотопным D/H-составом. При этом больший разброс значений среднеквадратичного отклонения был отмечен у *S. cerevisiae* (рис. 2).

Полученные результаты могут быть объяснены существенными в геохронологическом масштабе колебаниями концентрации дейтерия в гидросфере с достоверным ее возрастанием (Wang *et al.*, 2009; Gorokhova, 2018), что подтверждается данными исследований, проведенных на оз. Восток в Антарктиде (Екайкин *et al.*, 2016). Все это, возможно, имело значение в процессе эволюции микроорганизмов, которая происходила при более низких концентрациях дейтерия в окружающей среде. При этом у прокариот и эукариот могли сформироваться различные адаптационные механизмы к определенным пониженным значениям соотношений D/H, что подтверждается в том числе особенностями продукции CO₂ и ростовой активности *R. erythropolis* и *S. cerevisiae*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 19-44-233005) и государственного задания ЮНЦ РАН (№ АААА-А19-119040390083-6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Александров Р.А., Лагунов Н.И., Курчатова И.М., Сарычев Г.А., Нечаев И.А. Система водоснабжения с получением легкой воды на базе ядерного опреснительного комплекса // Атом. энергия. 2018. Т. 124. № 6. С. 336–339.
- Барышев М.Г., Болотин С.Н., Фролов В.Ю., Джимаков С.С., Пикула А.А., Долгов М.А., Шашков Д.И., Петриев И.С. Способы получения воды с пониженным содержанием дейтерия // Экол. вест. науч. центров Черноморск. эконом. сотрудничества. 2013. № 1. С. 13–17.
- Перт С.Д. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. М.: Мир, 1978. 330 с.
- Тхет Мьйо Аунг, Селиваненко И.Л. Эффективность разделения изотопов водорода ректификацией воды в колоннах с пленочным и затопленным режимами работы насадки // Хим. пром-сть сегодня. 2017. № 2. С. 3–10.
- Чернуха И.М., Федулова Л.В., Котенкова Е.А., Василевская Е.Р., Лисицин А.Б. Изучение влияния воды с модифицированным изотопным (D/H) составом на репродуктивную функцию, формирование и развитие потомства крыс // Вопр. питания. 2016. № 5. С. 36–43.
- Шихлярова А.И., Жукова Г.В., Кум О.И., Куркина Т.А., Ширнина Е.А., Протасова Т.П., Елкина А.А., Барышев М.Г. Влияние питьевого рациона с пониженным содержанием дейтерия на показатели эстрального цикла и адаптационные возможности организма у крыс-самок в предстарческом возрасте // Мед. вестн. Сев. Кавказа. 2018. Т. 13. № 1. С. 85–90.
- Basov A.A., Elkina A.A., Samkov A.A., Volchenko N.N., Moiseev A.V., Fedulova L.V., Baryshev M.G., Dzhimak S.S. Influence of deuterium-depleted water on the isotope D/H composition of liver tissue and morphological development of rats at different periods of ontogenesis // Iran. Biomed. J. 2019. V. 23. № 2. P. 129–141.
- Belo I., Pinheiro R., Mota M. Fed-batch cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* in a hyperbaric bioreactor // Biotech. Prog. 2003. V. 19. № 2. P. 665–671.
- Dzhimak S.S., Basov A.A., Elkina A.A., Fedulova L.V., Kotenkova E.A., Vasilevskaya E.R., Lyasota O.M., Baryshev M.G. Influence of deuterium-depleted water on hepatorenal toxicity // Jundishapur J. Nat. Pharmaceut. Prod. 2018. V. 13. № 2. P. e69557.
- Dzhimak S.S., Basov A.A., Kopytov G.F., Kashaev D.V., Sokolov M.E., Artsybasheva O.M., Sharapov K.S., Baryshev M.G. Application of NMR spectroscopy to the determination of low concentrations of nonradioactive isotopes in liquid media // Russ. Phys. J. 2015. V. 58. № 7. P. 923–929.
- Ekaikin A.A., Lipenkov V.Y., Kozache, A.V., Vladimirova D. Stable water isotopic composition of the Antarctic Subglacial Lake Vostok: implications for understanding the lake's hydrology // Isotop. Envir. Health Stud. 2016. V. 52. P. 468–476.
- Gorokhova E. Shifts in rotifer life history in response to stable isotope enrichment: testing theories of isotope effects on organismal growth // Roy. Soc. Open Sci. 2017. V. 4. P. 160810.
- Gorokhova E. Individual growth as a non-dietary determinant of the isotopic niche metrics // Meth. Ecol. Evol. 2018. V. 9. № 2. P. 269–277.
- Kirkinina, A.A., Lobyshev, V.I., Lopina, O.D., Doronin Yu.K., Burdeinaya T.N., Chernopyatko A.S. Isotopic effects of low concentration of deuterium in water on biological systems // Biophysics. 2014. V. 59(2). P. 326–333.
- Kolesnichenko P.D., Reznikov K.M., Efremova O.A., Zhernakova N.I., Stepchenko A.A. Natality and mortality with reduced RED-OX potential drinking water // J. Intern. Pharmaceut. Res. 2018. V. 45. P. 450–453.
- Koltover V.K., Labyntseva R.D., Kosterin S.O., Karandashev V.K. Magnetic isotope of magnesium accelerates ATP hydrolysis catalyzed by myosin // Biophysics. 2016. V. 61. № 2. P. 200–206.
- Kosenkov A.V., Gulyaev M.V., Lobyshev V.I., Yusubaliyeva G.M., Baklaushev V.P. The reversible effect of deuteration on tissue fluid and biopolymers in normal and tumor tissues of mice // Biophysics. 2018. V. 63(5). P. 820–824.
- Letuta U.G., Avdeeva E.I. Magnetic-dependent ATP pool in *Escherichia coli* // Dokl. Biochem. Biophys. 2017. V. 474. P. 196–199.

- Lobyshev V.I.* Biphasic response of biological objects on variation of low deuterium concentration in water // Intern. J. High Dilution Res. 2018. V. 17. № 2. P. 12–13.
- Nacu G., Boisteanu P.C., Pop L.M., Zăhan M., Simeanu D.* Research regarding the effect of deuterium depleted water from diluent on sows' fecundity // Sci. Papers-series d-animal Sci. 2018. V. 61. № 1. P. 149–153.
- O'Brien D.M.* Stable isotope ratios as biomarkers of diet for health research // Ann. Rev. Nutrition. 2015. V. 35. № 1. P. 565–594.
- O'Brien D.M., Kristal A.R., Nash S.H., Hopkins S.E., Luick B.R., Stanhope K.L., Havel P.J., Boyer B.B.* A stable isotope biomarker of marine food intake captures associations between n-3 fatty acid intake and chronic disease risk in a Yup'ik study population, and detects new associations with blood pressure and adiponectin // J. Nutrition. 2014. V. 144. № 5. P. 706–713.
- Parmon V.N.* On the possibility of observing kinetic isotopic effects in the life cycles of living organisms at ultralow concentrations of deuterium // Herald Russ. Acad. Sci. 2015. V. 85. № 2. P. 170–172.
- Pershin S.M., Ismailov E.Sh., Dibirova M.M., Akhmedov M.E., Tagirova F.V., Shashkov D.I., Abdulmagomedova Z.N.* Multiple increase in productivity of the yeast at reducing the fraction of D₂O in water // Dokl. Biochem. Biophys. 2017. V. 476. P. 299–302.
- Petriev I.S., Bolotin S.N., Frolov V.Y., Baryshev M.G., Sozayev V.A.* Hydrogen permeability of a foil of pd–ag alloy modified with a nanoporous palladium coating // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2018a. V. 82. № 7. P. 807–810.
- Petriev I.S., Frolov V.Y., Bolotin S.N., Baryshev M.G., Kopytov G.F.* Kinetic characteristics of hydrogen transfer through palladium-modified membrane // Russ. Phys. J. 2018b. V. 60. № 9. P. 1611–1617.
- Samkov A.A., Dzhimak S.S., Barishev M.G., Volchenko N.N., Khudokormov A.A., Samkova S.M., Karaseva E.V.* The effect of water isotopic composition on *Rhodococcus erythropolis* biomass production // Biophysics. 2015. V. 60. № 1. P. 107–112.
- Syroeshkin A.V., Antipova N.V., Zlatska A.V., Zlatskiy I.A., Skylska M.D., Grebennikova T.V., Goncharuk V.V.* The effect of the deuterium depleted water on the biological activity of the eukaryotic cells // J. Trace Elem. Med. Biol. 2018. V. 50. P. 629–633.
- Wang Y.V., O'Brien D.M., Jenson J., Francis D., Wooller M.J.* The influence of diet and water on the stable oxygen and hydrogen isotope composition of Chironomidae (Diptera) with paleoecological implications // Oecologia. 2009. V. 160. № 2. P. 225–233.
- Xie X., Zubarev R.A.* Effects of low-level deuterium enrichment on bacterial growth // PLoS One. 2014. V. 9. № 7. P. e102071.
- Xie X., Zubarev R.A.* Isotopic resonance hypothesis: experimental verification by *Escherichia coli* growth measurements // Sci. Rep. 2015. V. 5. P. 9215.

Influence of Environment Isotopic Composition Modification on Growth and Metabolic Activity of *Rhodococcus* and *Saccharomyces*

N. N. Volchenko¹, A. A. Samkov¹, V. V. Malyshko^{2,3}, A. A. Khudokormov¹, A. V. Moiseev⁴,
A. A. Elkina^{1,3, #}, M. G. Baryshev^{1,3}, and S. M. Pershin⁵

¹Kuban State University, ul. Stavropolskaya 149, Krasnodar, 350040 Russia

²Kuban State Medical University, ul. Sedina 4, Krasnodar, 350063 Russia

³Southern Scientific Centre, Russian Academy of Sciences, ul. Chekhov 41, Krasnodar, 344006 Russia

⁴Kuban State Agrarian University, ul. Kalinina 13, Krasnodar, 350004 Russia

⁵Prokhorov General Physics Institute, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 38, Moscow, 119991 Russia

#e-mail: 013194@mail.ru

The of CO₂ production level and the growth dynamics of the *Rhodococcus erythropolis* VKM Ac2017D (Russia) biomass and the yeast strain *Saccharomyces cerevisiae* OenofermC2 (France) in cultivation media with a differently reduced (from 10 to 150 ppm) deuterium concentration were determined. In media with a deuterium concentration of 50 ppm or less, the greatest increase in rhodococcal biomass was revealed. It was noted that the production of CO₂ as an integral indicator of the biological activity of cells is more pronounced in *Rhodococcus* compared with yeast. It was found that with generally similar dynamics of the curves of CO₂ emission, prokaryotes showed a wider temporal dynamics of its production.