

МИКРОБИОЛОГИЯ

Е. В. ДИАНОВА и А. А. ВОРОШИЛОВА

**НОВЫЙ МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ КУЛЬТУРЫ ПРОСТЕЙШИХ (АМЕБ),
СВОБОДНОЙ ОТ СОПУТСТВУЮЩИХ БАКТЕРИЙ**

(Представлено академиком П. И. Шмальгаузенем 16 XI 1939)

При разрешении вопроса о питании *Protozoa*, об их пищевых вкусах, о возможности усвоения ими не только организованной пищи (как бактерии, грибы, водоросли и др.), но и растворенной, одним из затруднительных моментов является получение чистой культуры простейших, освобожденной от бактерий. А между тем, знакомясь с историей этого вопроса (1), можно убедиться, что именно этим моментом, т. е. наличием бактериологически стерильных организмов, обуславливается бесспорное разрешение проблемы питания этих организмов.

К имеющимся в литературе методам непосредственной стерилизации организмов (промывание и антисептики) мы предлагаем еще один очень простой метод получения культуры простейших, свободных от сопутствующих им бактерий. Этот метод, испытанный нами на амебах, основывается на предварительном культивировании простейших за счет специфической группы бактерий, которые являются лишь «подсобной культурой», помогающей нам в дальнейшем получить культуру простейших без бактерий. Культура «подсобных» бактерий должна удовлетворять трем основным требованиям: с одной стороны, эти бактерии не должны развиваться на обычных питательных средах, которые употребляются для вульгарных бактерий и для простейших; с другой стороны, та среда, которая необходима для этой специфической группы бактерий, должна быть такой, чтобы никакие другие бактерии размножались на ней не могли: это необходимо для того, чтобы легко можно было избавиться от микрофлоры, свойственной простейшим. И третье условие, чтобы эта среда и вся обстановка выращивания этих бактерий не были токсичны для развития простейших. Для проведения опытов по этой методике прежде всего надо получить чистую культуру «подсобных» бактерий, освобожденную от случайных простейших, которые могут являться спутниками этих бактерий. Затем, внося в культуру «подсобных» бактерий исследуемые организмы, культивируют их совместно, перевив на селективную для «подсобных» бактерий среду. Таким образом совместная культура простейших и бактерий освобождается от вульгарной микрофлоры, которая могла быть внесена вместе с исследуемой культурой простейших и которая на этой среде развивается. Через несколько пассажей получается культура, состоящая только из «подсобных» бактерий плюс исследуемый объект. Необходимо дополнительно убедиться в чистоте полученной таким образом смешанной культуры путем контрольного посева на мясо-пептонный агар-агар — бактериального развития на этой среде не должно быть — и только тогда можно приступить к опытам по питанию простейших.

Для этого достаточно сделать прививку этой «бикультуры» на какую-нибудь среду, благоприятную для культивирования простейших. Так

как «подсобные» бактерии в этой среде развиваться не смогут, то наличие роста простейших в этих условиях покажет, что возможно чисто осмотическое питание их. Наоборот, отсутствие размножения простейших на этой среде докажет, что без бактерий простейшие развиваться не могут.

В этом последнем случае легко испытать пригодность для питания простейших других видов бактерий. Для этого стерильную среду для простейших заселяют одновременно «бикультурой» и испытуемым видом бактерий, растущим на этой среде. Интенсивность развития простейших определяется усвояемостью для них взятого штамма бактерий.

Так как видовые пищевые потребности простейших в отношении вида бактерий различны, так же как и неодинаково отношение их к тем условиям, которые необходимы для выращивания «подсобной» культуры, то подыскать какую-либо универсальную культуру бактерий, пригодную в качестве «подсобной» для всех объектов, нельзя. Для получения «бикультуры» амёб можно предложить в качестве «подсобных» бактерий бактерии, окисляющие метан, не растущие на обычных питательных средах. Такие бактерии были выделены нами из донных осадков Каспийского моря. Для своего развития они требуют обязательного присутствия метана. Они являются настолько облигатными в этом отношении, что другие источники углерода, как, например, соли органических кислот, углеводы и спирты, не могут им заменить метана. На средах, содержащих эти соединения в отсутствие метана, наши метаноокисляющие бактерии совершенно не развиваются. Не растут они и на средах с мясным бульоном, пептоном и аспарагином. Мы культивируем их на минеральной среде с NH_4Cl или KNO_3 , MgSO_4 , K_2HPO_4 и NaCl в атмосфере $\frac{1}{3}$ метана плюс $\frac{2}{3}$ воздуха. Но они хорошо развиваются и при меньших концентрациях метана*. При этом они дают одинаково хороший рост как на твердом субстрате, так и в жидкой среде, что очень существенно для опытов с теми простейшими, которые могут развиваться только в жидкой среде. Следовательно, эта культура удовлетворяет всем трем условиям, о которых мы говорили выше. Амёбы являются обычными спутниками метаноокисляющих бактерий при выделении их как из морских грунтов, так и из почв; это сочетание представляет как бы естественное сообщество.

Для проведения опытов с амёбами мы получали путем последовательных перевивок на минеральный агар-агар (KNO_3 0.1%, Na_2HPO_4 0.05%, MgSO_4 0.01%, NaCl 1%, водопроводной воды 100 мл) чистую «бикультуру» метаноокисляющих бактерий и амёб.

При посеве этой смеси организмов на твердую минеральную среду в атмосфере метана наблюдается обильное развитие обоих видов. Когда же эта «бикультура» отливается на мясо-пептонный агар, развития метановых бактерий не происходит, не развиваются и амёбы.

Но стоит привить на тот же самый мясо-пептонный агар какую-нибудь культуру, дающую рост на этой среде (в опыте была взята *Sarcina flava*), вся поверхность агара покрывается матовым налетом от развившихся амёб. Микроскопическое исследование подтверждает колоссальное количество амёб в смеси с *Sarcina flava*.

Микробиологическая лаборатория
Тимирязевской сельскохозяйственной Академии
Москва

Поступило
2 XI 1939

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Н. С. Гаевская, Зоолог. журн., XVIII, вып. 6 (1938).

* В тех случаях, когда простейшие отрицательно реагируют на метан, концентрацию его можно снизить до 2%.