

МИКРОБИОЛОГИЯ

В. О. КАЛИНЕНКО

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЖЕЛЕЗОБАКТЕРИИ

LEPTOTHRIX OCHRACEA

(Представлено академиком А. А. Рихтером 27 VII 1940)

Крупнейший русский микробиолог С. Виноградский открыл в восьмидесятых годах прошлого века ряд автотрофных микроорганизмов, добывающих энергию путем окисления таких неорганических соединений, как сера, закись железа, аммиак, нитриты.

В 1888 г.⁽¹⁾ он на примере *Leptothrix ochracea* Kütz выделил физиологическую группу железобактерий, обладающих следующими свойствами аноргоксидантов⁽²⁾: их существование обеспечивается закисными соединениями железа, окисляя которые они получают энергию, освобождающуюся в этом процессе. Они не нуждаются в органическом веществе ни для построения своего тела, ни для получения энергии. Единственным источником углерода для них является хемосинтетически ассимилируемая углекислота.

Так отчетливо была характеризована Виноградским группа железобактерий в 1922 г., но и в первой своей работе на эту тему (1888) он поставил их деятельность в природе в один ряд с окислительной работой серобактерий.

Роль железобактерий в хозяйстве человека и в природе очень значительна. Образование рудных отложений, закупорка водопроводных труб, порча питьевых и минеральных вод—все это принято относить к их деятельности.

Молиш⁽³⁾ первый подверг теорию Виноградского опытной проверке. Работая с тем же самым микроорганизмом, но с чистой его культурой, он пришел к противоположным выводам. С его точки зрения, органическое вещество не только не вредит железобактериям, но необходимо для них. Окисление и выделение железа являются не основной физиологической функцией их протоплазмы, а свойством студневидного чехла, абсорбирующего железо физико-химическим путем даже в мертвом состоянии.

Итак, в физиологии железобактерий существуют две основные и противоречивые точки зрения—Виноградского и Молиша. Экспериментальную поддержку Виноградскому оказал Лиске⁽⁴⁾. Излагаемые ниже мои результаты подкрепляют идеи Молиша.

Я начал с выделения чистой культуры той типичной железобактерии, с которой работали Виноградский, Молиш и Лиске. Стремление к чистой культуре при изучении физиологии железобактерий—не излишний педантизм, как думал Виноградский, а главное условие убедительности опы-

тов. Только чистая культура может решить вопрос, прав ли Виноградский в основном своем представлении, что железобактерии могут существовать лишь на фоне окисления закисных соединений железа. Если последовать за Виноградским и не отделить железобактерий от бактерий-спутников, то никак нельзя освободиться от сомнения, что вывод об окислении закиси железа соответствует истине. Сомнения возбуждаются тем фактом, что бактерии-спутники образуют закисные соединения железа благодаря подвижности этого металла и маскируют отношение самих железобактерий к железу. Виноградский в некоторых опытах питал культуры закисью железа, приготовленной им самим. Этим методом также нельзя устранить выраженное выше сомнение, потому что здесь могла происходить физико-химическая импрегнация, независимая от окислительной работы клетки. Если бы экспериментатор вместо закиси железа пропускал через свои культуры раствор нейтральрота или метиленовой синьки, то прижизненная окраска клеток не свидетельствовала бы о физиологической роли анилиновых красок.

Чистую культуру *Leptothrix ochracea* я выделил из ручейка в окрестностях Москвы (Останкино) путем разливки накопительной культуры на 1%-ный агар-агар, содержащий 0,3—0,6% аммиачного лимоннокислого железа. Через несколько перевивок была получена совершенно чистая культура классической *Leptothrix ochracea* Kütz.

Утверждение Виноградского, что *L. ochracea* предпочитает жизнь в водах с ничтожным содержанием или даже при полном отсутствии органического вещества, не подтверждается анализами. Болотные воды содержат растворимые органические вещества, а минеральные источники заселяются этой железобактерией только в некотором отдалении от места выхода вод из земли. Анализы О. Ю. Волковой⁽⁵⁾ показали, что в Пятигорских железистых источниках органическое вещество присутствует. Правильнее было бы считать, что железобактерии в природе никогда не имеют чистого минерального питания и положительно реагируют на обогащение водоема органическим веществом: при скудном доступе органических веществ они только кое-как выживают. Если к природной воде с единичными зародышами *L. ochracea* прибавить отвар сена, то через 1—2 суток получается богатая культура железобактерий. Интенсивность развития соответствует прибавке к воде органического вещества. Я ставил опыты в особых пробирках, имеющих дно, затянутое коллодийной мембраной или слоями асбеста. Железистые проточные воды свободно поступали внутрь пробирок, куда подсевалась чистая культура *L. ochracea*. Заметное развитие происходило только там, где в пробирки искусственно подтекало то или другое органическое вещество (пептон, отвар сена). Мои многолетние культуры *L. ochracea* и железонакопительной инфузории *Anthophysa vegetans* никогда не удавались без органического вещества⁽⁶⁾ и успешно шли на отваре сена, на глюкозе и пептоне.

На вопрос, необходимо ли железобактериям железо, отвечают опыты, в которых *L. ochracea* хорошо развивается на средах, не содержащих железа, уловимого микрохимическими реакциями. Нити *L. ochracea* в этих культурах имеют обычный вид клеточных цепочек, заключенных в безжелезистые чехлы. Такие нити, убитые легким нагреванием, абсорбируют железо, пропускаемое через препарат в виде слабого раствора закисного или окисного соединения. С такой же жадностью поглощают железо и марганец искусственные гели: агар-агар, желатина, коллодийная мембрана. Щелочная реакция геля благоприятствует абсорбции; кислый гель почти не абсорбирует закисного железа. Окисные соединения, особенно органического железа, абсорбируются студнями в меньшей зависимости от реакции.

Наблюдения над ростом *L. ochracea* без железа и над импрегнацией железом мертвых чехлов приводят к мысли, что железонакопление связано не с энергетической деятельностью клеток, а с абсорбцией железа из растворов биокolloидным веществом чехла.

Сильным аргументом против воззрений Виноградского являются культуры *L. ochracea* на окисном железе. Чистый штамм этой железобактерии я сеял на органические питательные среды с кремнекислым железом или с лимоннокислым аммиачным окисным железом. Развивались пышные культуры нитчатых форм. Тонкие чехлы, характерные для *L. ochracea* на богатых органических питательных средах, содержали железо. Следовательно, получив в питательном растворе не закись железа, а только окисные его соединения, железобактерии все же накапливают Fe^{+++} .

Цветными индикаторами (метиленовой синькой, лакмусом) я обнаружил восстановительные способности чистых культур *L. ochracea*. Электрометрические измерения окислительно-восстановительного потенциала в культуральной жидкости подкрепили это наблюдение. Значит, железобактерии сами восстанавливают железо. Я убедился, что на средах с углеводами или с органическим азотом, они создают кислоты, которые растворяют коллоидные осадки железа.

Таким образом, перед нами возникает прямое доказательство того факта, что железобактерии не окисляют, а редуцируют железо, как это делают и многие другие бактерии. Благодаря чистой культуре (7) и употреблению питательных сред с окисным железом удалось обнаружить это явление, кардинально противоречащее выводам Виноградского.

В свете этих наблюдений железобактерии представляются абсорбентами железа, растворенного в водоемах. Они действительно растворяют осадки и редуцируют трехвалентное железо. Их рост и размножение обеспечиваются не окислительной работой, направленной на закисное железо или марганец, а притоком органического вещества. Они удовлетворяются небольшими, но постоянно возобновляющимися его концентрациями и положительно отзываются на обогащение субстрата органическим веществом.

Микробиологическая лаборатория
Института каучуконосов
Москва

Поступило
27 VII 1940

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ S. Winogradsky, Bot. Ztg (1888). ² S. Winogradsky, Zbl. f. Bakt., II Abt., 57 (1922). ³ H. Molisch, Die Eisenbakterien (1910). ⁴ R. Lieske, Zbl. f. Bakt., II Abt., 49 (1919). ⁵ О. Волкова, Микробиология, VIII, вып. 7 (1939). ⁶ В. Калининко, Микробиология, VIII, вып. 1 (1939). ⁷ В. Калининко, Микробиология, IX, вып. 6 (1940).