

Г. П. СЛАВНИНА

**ПЕРОКСИДАЗА У МЕТАНООКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ**

(Представлено академиком А. А. Рихтером 12 XII 1946)

Микробиологическая разведка нефтяных и газовых месторождений, предложенная Г. А. Могилевским<sup>(1)</sup> в 1937 г., основана на обнаружении бактерий, окисляющих углеводороды. Основным показателем присутствия нефти и газа является наличие в грунте бактерий, окисляющих газообразные углеводороды — метан и пропан. Наряду с ними исследуются бактерии, окисляющие жидкие (пентан, гексан и гептан) и некоторые другие газообразные углеводороды.

Для дальнейшего усовершенствования микробиологической разведки необходимо разработать методы быстрого и точного распознавания основных индикаторных организмов, что особенно важно при обнаружении значительного разнообразия микроорганизмов при лабораторном анализе грунтов.

В процессе искания отличительных физиологических признаков автором были проанализированы бактерии на содержание в них окислительных ферментов и найдены значительные и устойчивые различия в энзиматических показателях, что может служить реакцией для выявления отдельных представителей бактерий.

Настоящее исследование посвящается изучению окислительных ферментов и каталазы у бактерий, окисляющих газообразные (метан, этан, пропан) и жидкие (пентан, гексан, гептан) углеводороды.

В литературе имеются некоторые сведения об окислительных ферментах и каталазе у бактерий. Так, Jorns<sup>(4)</sup> нашел каталазу у *Bacillus prodigiosus*, *Bacterium pyocyaneum*, *Bac. tuberculosis* и др. Tausz и Peter<sup>(6)</sup>, а позднее Tausz и Donath<sup>(5)</sup> описали каталазу у *Bacterium aliphaticum* и *B. aliphaticum liquefaciens*. Е. Н. Мишустин<sup>(7)</sup> и В. К. Мишустина исследовали активность каталазы у *Bacillus mycoi-des*. Каталаза, а также оксидазы обнаружены у дрожжей. Известно наличие окислительных ферментов у уксуснокислых бактерий. Roux<sup>(3)</sup> нашел оксидазу у *Bacterium coli* при росте бактерий на питательной среде, содержащей гидрохинон.

**Экспериментальная часть**

**Методика.** Исследования по определению окислительных ферментов проводились с накопительными и чистыми культурами бактерий, окисляющих газообразные (метан, этан, пропан) и жидкие (пентан, гексан, гептан) углеводороды. Образец грунта из обследованного района вносился в стаканчики с крышками и заливался стерильной неорганической средой следующего состава:  $\text{KNO}_3$  — 0,1%,  $\text{MgSO}_4$  — 0,02%,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  — 0,1%,  $\text{NaCl}$  — 0,1%. Вода водопроводная. pH среды 7,0—7,2. Стаканчики с грунтом и питательной средой помещались в

атмосферу паров жидкого или газообразного углеводорода. Выращивание культур производилось в термостате при температуре 28—32° С. Рост бактерий обнаруживался по образованию пленки. Эти бактериальные пленки анализировались на содержание окислительных фер-

Оксидазы и каталаза

| Наименование бактерий  | Реакции                 |   |   |
|--|-------------------------|---|---|
|  | гвая-<br>ковая<br>смола | гваяковая<br>смола +<br>+ пере-<br>кись водо-<br>рода | разложе-<br>ние пере-<br>киси водо-<br>рода |
| I. Бактерии, окисляющие газооб-<br>разные углеводороды:  |                         |   |   |
| <i>Methanomonas methanica</i> . . .  | —                       | +   | ++  |
| этанокисляющие . . . . .   | —                       | —   | +   |
| пропаноокисляющие . . . . .  | —                       | —   | +   |
| II. Бактерии, окисляющие жид-<br>кие (пентан, гексан, гептан)<br>углеводороды: <i>Bacterium ali-</i><br><i>phaticum liquefaciens</i> . . . . . | —                       | —   | +++   |

ментов. Пользуясь обычными качественными реакциями, определялось наличие оксидазы и каталазы.

Оксидаза устанавливалась по посинению бактериальной пленки при нанесении на нее 1% спиртового раствора гваяковой смолы с добавлением перекиси водорода или без нее.

Каталаза обнаруживалась по быстроте разложения перекиси водорода при нанесении 3% раствора H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> на бактериальную пленку.

Автором проводилось определение ферментов у следующих бактерий, окисляющих углеводороды: *Bacterium aliphaticum liquefaciens* Tausz and Peter (1919), *Methanomonas methanica* Orla — Jensen (1909), а также у этано- и пропаноокисляющих бактерий (систематически не идентифицированных).

Результаты многочисленных определений ферментов приведены в таблице.

Все исследованные бактерии не дают реакции с гваяковой смолой, только у *Methanomonas methanica* обнаружены окислительные ферменты типа пероксидаз. Каталаза имеется у всех бактерий, однако активным разложением перекиси водорода характеризуется лишь *Bacterium aliphaticum liquefaciens*.

Проведенные опыты позволяют прийти к выводу, что, пользуясь реакцией на пероксидазу, можно обнаружить метаноокисляющих бактерий, так как из всех исследованных организмов только они дают характерное синее окрашивание при воздействии на них гваяковой смолы и перекисью водорода. Установив наличие пероксидазы у основного индикатора нефтяных и газовых месторождений (*Methanomonas methanica*), автор перешел к массовой проверке этих результатов. Пероксидаза определялась в пленках *M. methanica*, выделенных из различных образцов нефтеносных грунтов Крыма, Краснодар, Баку и других пунктов. Из всех проанализированных 342 образцов, содержащих метаноокисляющих бактерий, только 8 дали отрицательный результат на пероксидазу.

Параллельно исследовались другие представители углеводородных бактерий (этанокисляющие, пропаноокисляющие и *Bacterium aliphaticum liquefaciens*), изолированные из тех же грунтов, но ни в одном случае не получено положительной реакции на пероксидазу.

При изучении наличия окислительных ферментов у *Methanomonas methanica* было обнаружено, что морфология этого организма сильно

варьирует; наряду с типичными морщинистыми пигментированными пленками (1-й тип) встречаются белесые нежные пленки (2-й тип). Последние были получены при анализе краснодарских образцов и, повидимому, приурочены к определенным грунтам. Явно выраженными окислительными ферментами типа пероксидаз характеризуются только типичные метаноокисляющие бактерии (1-й тип). Второй тип, представленный очень мелкими кокками и палочками, дает очень слабую пероксидазную реакцию. Итак, пользуясь характерной красочной реакцией (гваяковая смола и перекись водорода) на пероксидазу, можно определить наличие типичных метаноокисляющих бактерий. В случае применения естественного газа для выращивания бактерий и развития наряду с метаноокисляющими других углеводородных бактерий, например пропаноокисляющих, этой реакцией можно пользоваться для распознавания изучаемых организмов.

Всесоюзная контора  
„Нефтегазосъемки“

Поступило  
12 XII 1946

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup>Г. А. Могилевский, Авторское свидетельство № 55154, 1937; Разведка недр, № 12, 32 (1940). <sup>2</sup>Е. Н. Мишустин и В. К. Мишустина, Микробиология, 15, 4, 285 (1946). <sup>3</sup>К. Оппенгеймер и Р. Кун, Ферменты, 1932, стр. 750. <sup>4</sup>Jorns, Arch. Hygiene, 67, 161 (1908). <sup>5</sup>J. Tausz и P. Donath, Z. physiol. Chem., 190, 141 (1930). <sup>6</sup>J. Tausz и M. Peter, Ctbl. Bakt., Abt., 2, 49 (1919).