

МИКРОБИОЛОГИЯ

М. О. СТРЕШИНСКИЙ

**ОБ УСЛОВИЯХ ВОЗНИКОВЕНИЯ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ
СВОЙСТВ МИКРООРГАНИЗМОВ**

(Представлено академиком А. И. Опарином 5 IX 1950)

Исследования, проведенные в последние годы в поисках микроорганизмов — активных продуцентов антибиотических веществ, показали, что способность к выделению биологически активных веществ, широко распространенная среди разных естественных групп микроорганизмов, значительно варьирует в пределах разных штаммов одного и того же вида или форм близких видов. Способность к выделению антибиотических веществ является скорее особенностью данного выделенного штамма, чем вида в целом. Из естественных условий существования высеваются культуры микроорганизмов одного и того же вида — как активные, так и неактивные. При этом первые могут различаться между собой по интенсивности выделения антибиотических веществ, по их химической природе и антибактериальному действию. С другой стороны, культуры разных, иногда далеких видов часто выделяют антибиотические вещества, сходные по структуре и по своему действию на окружающую микрофлору.

Проведенные нами исследования антагонистических взаимоотношений между *Penicillium notatum* и культурой *Bacillus subtilis*, возникающие при их развитии в смешанной культуре в почве или на искусственных питательных средах⁽¹⁾, показали, что исследованная бактериальная форма под влиянием выделений пенициллиума приобретает способность выделять в окружающую среду вещества, подавляющие развитие мицелия гриба. В фильтратах чистых бактериальных культур подобных веществ нельзя обнаружить: наличие выделений пенициллиума в питательной среде является необходимым условием для проявления активности данной бактериальной формы.

Представляло интерес проследить, каков будет характер взаимоотношений пенициллиума и других культур этой же группы бактерий, выделенных из разных источников. Известно, что бактерии группы *Bac. subtilis* широко распространены в природе. Для разных культур этой группы описано свыше десятка антибиотических веществ, различных по своим физико-химическим свойствам и антибактериальному действию. Исследование было подвергнуто всего 49 штаммов *Bac. subtilis*, частично полученных из лаборатории Е. Н. Мишустина, частично выделенных нами из почвы.

Методика исследования заключалась в следующем: 20-часовая бульонная культура бактерий наносилась штрихом на питательный агар в чашке Петри с 2-дневной колонией *P. notatum* в центре, штрихи наносились радиально от края грибной колонии до стенок чашки. Видимый рост бактерий по штриху наступал только на неко-

тором расстоянии от грибной колонии, вокруг которой имелась зона, неблагоприятная для развития бактерий. Эта зона, разная по величине для разных культур *Vac. subtilis*, служила показателем чувствительности (устойчивости) данной культуры к выделениям пенициллиума, диффундирующими в агар. В последующие дни регистрировались формы проявления взаимодействия между разрастающимся грибным мицелием и бактериальной культурой, развившейся по штриху.

Среди испытанных 49 культур *Vac. subtilis* можно было отметить группу „неактивных“ форм, к которой принадлежала и культура, с которой велась работа в течение предыдущего года. Эта группа культур *Vac. subtilis* давала зону отсутствия роста по штриху в 10—14 мм от края колонии гриба. В последующие дни, по мере нарастания живой массы пенициллиума и, следовательно, повышения концентрации веществ, выделяемых ею и диффундирующих в агар, наступал более или менее энергичный распад бактериальных клеток по штриху — по направлению от центра чашки к периферии. Разрастающиеся по агару гифы гриба без видимых препятствий обрастили участки, занятые бактериальной культурой, как и близлежащие участки незанятой поверхности питательной среды.

Рис. 1. Чашка Петри через 24 часа после нанесения радиальных штрихов бактериальных культур *Vac. subtilis*. В центре — колония *P. notatum*; 1, 2 — активная культура бактерий, 3, 4 — неактивная

занятые бактериальной культурой, как и близлежащие участки незанятой поверхности питательной среды.

Другая группа форм, отмеченных нами как „активные“, давали значительно меньшую зону по штриху — порядка 2—6 мм. Выросшая бактериальная масса не лизировалась, наоборот наличие ее на поверхности агара становилось препятствием для разрастания грибного мицелия. Вокруг участка агара, занятого бактериями, возникала зона, недоступная для гриба; колонии последнего принимали неправильную форму, в зависимости от расположения штрихов на чашке (см. рис. 1 и 2).

Между этими двумя крайними группами были формы промежуточные, у которых способность задерживать рост мицелия пенициллиума была выражена в большей или меньшей степени. Численное распределение исследованных культур по их активности против пенициллиума было следующим: форм сильно активных 6, средне активных 5, слабо активных 8, неактивных в условиях опыта 30.

Как уже указывалось, для одного штамма, неактивного в чистой культуре, нами была доказана способность к выделению биологически активных веществ в культурах смешанных, в результате ответной реакции бактериальной клетки на воздействие на нее выделений конкурента (пенициллиума). Мы предположили, что способность бактерий к выделению антибиотических веществ в этих условиях (в смешанных культурах) является переходной ступенью к способности ее выделять подобные вещества и в чистой культуре, т. е. что штаммы активные возникают в результате развития бактерий в сообществе

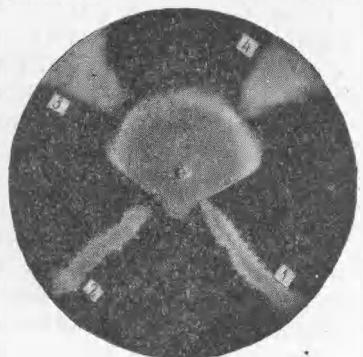
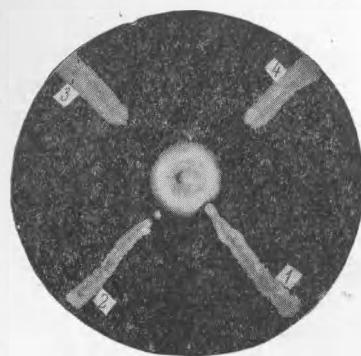


Рис. 2. Та же чашка, что и на рис. 1, через 50 час. после нанесения штрихов

с другими конкурентными видами. В этих условиях указанная "ответная реакция" бактериальной клетки переходит в наследственно закрепленную способность к выделению антибиотических веществ.

Однако попытки экспериментально доказать высказанное предположение выращиванием неактивного штамма бактерий в смешанной культуре с пенициллиумом не дали положительных результатов. Обе эти формы являются резкими антагонистами, и развитие их в смешанной культуре в условиях эксперимента приводит к полной гибели одной из форм (в зависимости от численного соотношения компонентов).

Условия для направленного изменения антагонистических свойств бактерий нами были найдены при выращивании бактериальной культуры на растертой пленке мицелия гриба. Методика работы заключалась в следующем. 5-дневная пленка мицелия *P. notatum*, выросшая в стерильных условиях на поверхности жидкой питательной среды, растиралась в ступке с песком. Растиральная масса затем разбавлялась свежей средой (картофельный отвар) из расчета 10 г сырого мицелия на 100 см³ жидкости и фильтровалась через фильтр Зейца. Фильтрат разливался по 2 см³ в пробирки и после проверки в течение 3 дней на стерильность в термостате при 24° засевался бактериями.

Через каждые 3—5 дней бактерии пересевались в пробирки со свежей порцией фильтрата. После пересева испытывалось отношение культуры к пенициллиуму методом нанесения штрихов, как было описано выше.

В ряде случаев, после нескольких пересевов на этой среде бактерии, вначале не выделявшие в чистой культуре биологически активных против пенициллиума веществ, приобретали эту способность и становились не отличимы от форм активных, выделенных из почвы. Действие измененной культуры *Vac. subtilis* на растущий мицелий пенициллиума показано на рис. 3.

Всего в 8 опытах, в каждом из которых заражалось по 5—7 пробирок с фильтратом, нами были получены направленные изменения в 8 пробирках. Контрольные пробирки, в которых параллельно проводился засев той же бактериальной культуры на исходную питательную среду, ни в одном случае изменений не дали.

Как уже указывалось, между формами, обладавшими активностью и неактивными при выделении из почвы, никаких морфологических, а также культуральных отличий, за исключением их антагонистических свойств, не наблюдалось. Поэтому, несмотря на тщательное соблюдение стерильности при работе, возникновение измененных (активных) форм только в отдельных опытах (и то не во всех повторностях) оставляло место для сомнения — не являются ли полученные данные результатом случайного попадания в отдельные пробирки спор или вегетативных клеток первично-активных культур.

Наблюдения за измененными культурами показали, что для подобных сомнений нет оснований. Так, в одних случаях измененные штаммы после ряда пересевов на обычные среды теряли вновь приобретенные особенности и у них полностью или частично восстанавливались свойства исходного штамма, чего никогда не приходилось наблюдать на штаммах, выделенных активными из почвы. В другом случае воз-

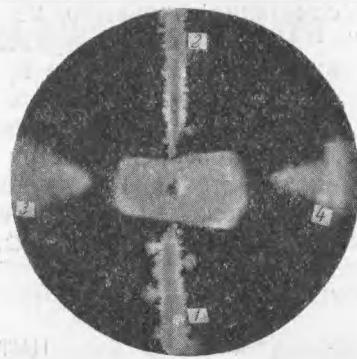


Рис. 3. 1, 2 — штрихи культуры *Vac. subtilis*, превращенной в активную форму; 3, 4 — исходная культура

никла новая форма, не наблюдавшаяся нами в культурах, полученных из естественных условий: возникла культура, не дающая зону, т. е. растущая по штриху почти вплотную до колонии гриба, и в то же время не способная приостановить рост мицелия, как это свойственно активным культурам.

На вопрос о том, почему, при внешне одинаковых условиях, изменения наступают не во всех опытах и не во всех повторностях, пока ответить трудно. Вероятно, главная причина этого явления кроется в индивидуальных особенностях бактериальных клеток, которые вносятся при засеве среды. Для того, чтобы изменения в процессах обмена, приводящие к образованию клеткой веществ, антагонистически действующих на другие виды, закрепились и стали наследственным свойством данной культуры, необходимо определенное сочетание внешних и внутренних факторов. В условиях наших опытов такое сочетание, очевидно, не всегда имело место.

На основании приведенных экспериментальных данных можно высказать следующее предположение. Способность бактерий к выделению антибиотических веществ чаще всего возникает как ответная реакция организма на наличие в среде биологически активных выделений конкурентов. При определенных экологических условиях развития в течение ряда поколений в смешанной культуре эта особенность может наследственно закрепиться, и данная форма становится активной уже в чистых культурах.

Поступило
26 IV 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. О. Стрешинский, Микробиология, 18, в. 5 (1949).