

В. МЕХТИЕВА

**РАЗВИТИЕ ГЕТЕРОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ В ЖИДКОЙ
МИНЕРАЛЬНОЙ СРЕДЕ В ОТСУТСТВИЕ
ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ**

(Представлено академиком А. И. Опарным 6 I 1953)

Выделение чистых культур автотрофных нитрифицирующих микроорганизмов сопряжено с большими трудностями. Все исследователи, работавшие в этом направлении, отмечают, что нитрификаторы встречаются в природе в окружении обычных гетеротрофных форм, из которых некоторые упорно сопутствуют автотрофам на всех минеральных средах, как жидких, так и плотных. Даже при культивировании нитрифицирующих микроорганизмов на средах, приготовленных на дистиллированной воде и перекристаллизованных солях (¹⁻⁶), нитритные и нитратные микробы переходили из пассажа в пассаж в сопровождении одного или нескольких видов гетеротрофных микроорганизмов, прекрасно развивающихся на мясо-пептонном агаре и желатине, но неспособных окислять аммиак и нитриты.

Это интересное явление — развитие гетеротрофных бактерий в средах, лишенных органического вещества, — не получило до настоящего времени надлежащего объяснения, а между тем оно заслуживает пристального внимания.

Действительно, за счет каких питательных ресурсов существуют гетеротрофные микробы-спутники в чисто минеральных средах и притом весьма интенсивно размножаются, так что число их зачастую во много сотен раз превышает число автотрофных организмов (⁴)?

Трудно допустить наличие органического вещества в дистиллированной и дважды дистиллированной воде и перекристаллизованных химически чистых солях, служащих исходным материалом для приготовления упомянутых сред. Культуральные сосуды также не могут явиться источником питательных веществ, потому что они, как правило, подвергаются тщательной механической и химической обработке. Нет оснований предполагать, что микробы-спутники являются по своей природе факультативными автотрофами (миксотрофами), ввиду того, что они не способны окислять аммиак, и нитриты — единственные химические источники энергии, имеющиеся в средах для первой и второй фаз нитрификации.

С. Н. Виноградский (¹) считал, что микробы-спутники находятся в «истощенном» состоянии вследствие ничтожного содержания питательных веществ в среде. Число их, по данным Виноградского, в очищенных культурах нитритного микроба невелико и не превышает 20 000 клеток в 1 мл. Он объяснял развитие упомянутых форм присутствием в чисто минеральных средах следов органического вещества, вносимых с водой и реактивами и постоянно пополняемых веществами, создаваемыми нитрификаторами в процессе хемосинтеза.

Мною был проведен ряд опытов для проверки справедливости этой гипотезы, считавшейся до настоящего времени бесспорной.

С этой целью из накопительной культуры почвенных нитритных микробов на среде В (среда Виноградского для первой фазы нитрификации, приготовленная на дистиллированной воде и перекристаллизованных солях с добавкой микроэлементов) были выделены путем посева на МПА (мясо-пептонный агар) четыре штамма, условно обозначенные Р, Ф, Н и Д.

Выделенные штаммы были отвиты в колбочки Эрленмейера объемом в 50 мл, содержавшие исходную среду В. В дальнейшем эти штаммы велись исключительно на среде В, что позволило избежать внесения органических веществ из агара в опытные колбы.

При посеве упомянутых штаммов и их смеси М на среду В оказалось, что все они хорошо развивались и в отсутствие нитрификаторов, причем самое тщательное исследование не обнаруживало в культуральной жидкости окисленных форм азота.

Был проведен точный количественный учет числа гетеротрофных бактерий на упомянутой среде в накопительной культуре почвенных нитритных микроорганизмов П, штаммах Р, Ф, Н и Д и смеси М. Для того чтобы не внести при посеве в опытные колбы сколько-нибудь значительных количеств органики, из культур П, Р, Ф, Н, Д и смеси М, находившихся в коллекции на среде В, готовились болтушки на стерильном физиологическом растворе в разведении 1:100 (раствор готовился на дистиллированной воде и перекристаллизованном NaCl). Посев производился 1 мл болтушки. Число бактерий определялось путем подсчета колоний, выросших на МПА. Методика исследования во всех опытах была строго стандартизирована, и ни малейших отклонений не допускалось.

Цифры, характеризующие динамику количества бактерий, приведены в табл. 1.

Таблица 1

Количество бактерий в тысячах в 1 мл среды

Культуры	5 П (начало опыта)	7 П	9 П	13 П	15 П	18 П
Накопительная культура П	2,4	14 150	5 110	3 600	7 000	3 000
Смесь М	51,3	18 000	46 000	61 000	93 500	148 000
Р	273,5	3 015	8 570	10 800	10 890	17 000
Ф	210	5 500	115 000	3 700	1 770	3 500
Н	65,2	17 250	18 000	41 200	105 500	115 500
Д	42,4	12 070	50 000	51 600	60 000	67 500

Эти данные были подтверждены результатами ряда других опытов, из которых совершенно очевидно, что чистые культуры заведомо гетеротрофных микроорганизмов способны интенсивно развиваться в чисто минеральной среде в отсутствие нитрифицирующих бактерий. Более того, присутствие нитрификаторов тормозит развитие гетеротрофов, что особенно заметно при сравнении количества бактерий в смеси М и культуре П, содержащих одни и те же гетеротрофные формы.

Для выяснения характера углеродного питания изучаемых штаммов на среде В представлялось целесообразным изучить изменение содержания органического вещества в жидких культурах при длительной инкубации. Определение органического вещества производилось по методу Кюпа (чувствительность 0,03 мг углерода).

Были проведены две серии опытов, причем в качестве культуральных сосудов употреблялись колбы для сжигания от аппарата Кюпа; сжигание производилось в том же сосуде, в котором развивался штамм. Этот

прием позволил избежать потерь органического углерода, возможных при переносе содержимого из одного сосуда в другой. В каждый сосуд вносилось по 100 мл среды. Для заражения были взяты культура П и смесь М; последняя характеризуется более интенсивным развитием, чем каждый из входящих в нее штаммов в отдельности. В каждом опыте ставился ряд параллельных колб, и для анализов использовалось все содержимое сосуда, т. е. 100 мл. Большой объем испытуемого раствора повышает точность определения. Колбы выдерживались в термостате при 28°. Результаты опытов приведены в табл. 2.

Таблица 2

Органический углерод в миллиграммах CO₂ на 100 мл среды

Культура	7 IV (начало опыта)	28 IV	22 V	Средн. прирост CO ₂ в мг на 100 мл среды	17 VI (начало опыта)	18 VII	Средн. при- рост CO ₂ в мг на 100 мл среды
Стерильный конт- роль	0	—	11,6	11,6	0; 0	9; 9,7	9,35
Накопительная культура П . . .	0	9,6	22,5; 21,9	22,2	1; 1,5	17; 16,6	16,8
Смесь М	0	8,0	12,8	12,8	1; 1	11; 10,6	10,3

Из анализа приведенных данных можно заключить, что за время инкубации среда адсорбировала значительное количество органического вещества. Прирост CO₂ в смеси штаммов М был почти равен приросту его в стерильной среде, в то время как в накопительной культуре нитритного микроба количество CO₂ почти в два раза выше; последнее, несомненно, следует отнести за счет накопления в среде продуктов хемосинтеза нитрификаторов. Отсюда можно прийти к заключению, что развитие гетеротрофных бактерий в чисто минеральной среде происходит за счет адсорбции органического вещества из воздуха.

Справедливость подобного вывода подтверждается работами Н. Г. Холодного (7) по изучению питания микроорганизмов парами органических соединений, поглощаемых непосредственно из воздуха. Холодный установил, что микроорганизмы способны усваивать из воздуха разнообразные органические вещества и что способность к «воздушному питанию» органическими веществами присуща множеству различных микроорганизмов, в первую очередь почвенных.

Штамм Н относится к роду *Serratia*, близок к *Serratia rubefaciens* (Bergey).

Штамм Р весьма сходен с *Pseudobacterium rubricum* (Hefferan) (*Serratia rubria* (Bergey)).

Штамм Д относится к роду *Serratia*, сходен с *Serratia rubra* (Bergey).

Штамм Ф принадлежит к роду *Flavobacterium*, близок к *Flavobacterium annulatum*.

Все четыре спутника представлены неспорообразующими грам-отрицательными палочками, близко стоящими друг к другу в систематическом отношении.

В ы в о д ы

1. Некоторые типичные гетеротрофные бактерии способны к развитию в жидких и плотных минеральных средах, свободных от присутствия органических веществ.

2. Их рост и развитие осуществляются за счет адсорбции органических веществ из воздуха.

Институт океанологии
Академии наук СССР

Поступило
11 XII 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ С. Н. Виноградский, Микробиология почвы, 1952. ² W. M. Gibbs, Soil Sci., 8, 427 (1919). ³ J. Heubült, Planta Arch. f. wiss. Bot., 8, 3, 398 (1929). ⁴ D. H. Nelson, Zbl. Bakt., II Abt., 83, 280 (1931). ⁵ T. J. Kingma Boltjes, Arch. f. Microb., 6, N. 1, 79 (1935). ⁶ J. Melkelejohn, J. Gen. Microbiol., 4, No. 2, May (1945). ⁷ Н. Г. Холодный, Микробиология, 5, в. 2, 159 (1936); ДАН, 41, 416 (1944); 43, № 6, 272 (1944); Среди природы и в лаборатории, 1949, стр. 156.