

Л. А. Ерзинкян

Морфологические изменения азотобактера под влиянием фенола

Предварительное сообщение

В иностранной и отечественной литературе встречается много работ, посвященных морфологическим изменениям азотобактера под влиянием различных химических веществ и антибиотиков. В ряде работ, посвященных изменениям морфологических свойств азотобактера, подчеркивается и высокая чувствительность азотобактера к различным условиям среды (температура, удобрение, реакция среды и т. д.)

В настоящей статье мы укажем на работы Deroux (1953) и Африкян, Арутюнян (1953), в которых приводятся данные о морфологическом изменении азотобактера под влиянием различных антибиотиков *in vitro*. Deroux в своей работе приводит данные о морфологических изменениях *Az. chroococcum* под воздействием пенициллина и тетрациклина. Он указывает, что с повышением концентрации пенициллина (0,5 мг/см³, 1 мг/см³, 3 мг/см³ и т. д.) в питательной среде форма клеток азотобактера сильно меняется: клетки увеличиваются в размерах, несколько удлиняются, становятся толстыми, иногда принимают грушевидные и другие различные формы.

Африкян и Арутюнян на материале 36 культур *Az. chroococcum* и 2 культур *Az. agille* v. *jakutiae* и *Az. vinelandii* установили, что под влиянием различных концентраций пенициллина, стрептомицина и грамицидина „С“ величина клеток азотобактера увеличивается в длину в 5—10 и более раз.

К сожалению, нам не удалось в литературе найти сведения о влиянии различных концентраций фенола на развитие и морфологические изменения азотобактера. По нашему

мнению, вопрос об отношении азотобактера к фенолу может представлять не только теоретический, но и определенный практический интерес, хотя бы в районах действия мощных коксохимических заводов и крупных промышленных центров, где канализационные нечистоты, отбросы и отходы продуктов переработки различных отраслей промышленности непосредственно выпускаются в ближайшие реки и прочие водоемы общественного пользования без соответствующей очистки. Вопрос утилизации фенола или полной очистки сточных вод коксохимических заводов от фенола для безопасного спуска их в водоемы до сих пор не везде полностью разрешен положительно. Однако возможные вредные последствия из-за попадания фенолосодержащих сточных вод в водоемы общественного пользования не всеми оцениваются в должной мере. Не говоря о возможном вредном действии фенола на рыб, населяющих эти водоемы, и животных, пользующихся непосредственно водой указанных водоемов, мы полагаем, что даже слабые концентрации фенола могут отразиться на жизнедеятельности микроорганизмов, и, в первую очередь, на высокочувствительный азотобактер, населяющий поливные земли, орошаемые из загрязненных фенолом рек, озер и прочих водоемов общественного пользования. Кроме того, фенол может образоваться в почвах вследствие жизнедеятельности и разложения после гибели огромного количества животных организмов, населяющих почву. Действительно, значительная часть фенола с течением времени может использоваться некоторыми микроорганизмами, в том числе железобактериями, в качестве углеродистого питания или нейтрализоваться химическим составом почвы или продуктами жизнедеятельности микро и макроорганизмов, населяющих почву. Однако и в этом случае возможно, что часть фенола может оставаться в почве и воздействовать на микроорганизмы.

Все эти и им подобные вопросы заслуживают определенного внимания и требуют всестороннего глубокого изучения. Настоящая статья не претендует на это, так как влияние различных факторов в том числе и различные концент-

рации фенола на почвенные и водные микроорганизмы не служили предметом специального исследования.

Необходимо указать, что еще 22 года тому назад проф. Миненковым было отмечено благотворное влияние азотобактера на организм животных. В последние годы Квасниковым, Полонской, Леонович, Бибердиевой, Поперековой были проведены работы по совместному культивированию азотобактера с молочнокислыми бактериями.

Исследованиями Полонской, Леонович, Бибердиевой и Поперековой (1957) было установлено стимулирующее действие азотобактера на развитие ацидофильных молочнокислых бактерий и благотворное действие ацидофильных бактерий в смеси с азотобактером на организм животных. По данным этих же авторов при одновременном скормливание азотобактера с ацидофильными культурами привесы цыплят за 25 суток увеличились на 25% по сравнению с контролем (ацидофильные культуры без азотобактера).

В докладе на конференции по биохимии и физиологии микроорганизмов, созванной Институтом микробиологии Академии наук СССР и биолого-почвенным факультетом Московского государственного университета (Москва, апрель, 1957 г.), Квасников указывал, что внесение в почву азотобактера совместно с молочнокислыми бактериями значительно повышает урожайность сельскохозяйственных культур.

В целях применения в животноводстве комбинированных культур, состоящих из смеси молочнокислых бактерий с азотобактером, нами была начата работа по изучению фенолостойких свойств азотобактера при раздельном и совместном его культивировании с молочнокислыми бактериями в питательных средах с содержанием различных количеств фенола.

В настоящей статье мы приводим лишь данные о росте и изменении морфологических свойств азотобактера под влиянием различных концентраций фенола в жидкой среде Эшби.

Культуры *Az. chroococcum* M-10⁻¹ и *Az. agile* A-21 в 1954 г. нам любезно были представлены кандидатом биоло-

гических наук, стар. науч. сотруд. Сектора микробиологии Академии наук Армянской ССР А. В. Киракосян, которые были

Таблица 1

Рост и морфологические изменения *Az. chroococcum* M-10⁻¹ в жидкой среде Эшби под влиянием различных концентраций фенола

Концентрация фенола в ‰	Пигментация (окраска среды)	Морфологическая характеристика и величина клеток в микронах
Контроль	—	Крупнозернистые клетки 1—1.6—1.8—2.4—2.5—2.8—3.2 микрон длиной, расположенные одиночно, соединенные попарно, в короткие цепочки (4—7 клеток в цепи) и кучками
0,05	светло-бурая	Величина клеток 3.2×3.2; 4.8×4.8; 6×5; 6×1.5—2. Клетки свыше 6 микрон, сильно разбухшие, зернистые, с не ясно очерченными краями
0,1	светло-прозрачная	Роста нет. Клетки сильно разбухшие и деформированные. Клетки превратились в бактериальную сеть, сплошь усыпанную мелкими зернами
0,15	светло-прозрачная	Роста нет. Клетки превратились в бактериальную сеть, сплошь усыпанную мелкими зернами
0,2	светло-прозрачная	Роста нет. Клетки превратились в бактериальную сеть, сплошь усыпанную мелкими зернами. Наряду с этим встречаются сильно разбухшие клетки 8×8; 12×8; 26×4 грушевидной, палочковидной и шарообразной формы с не ясно очерченными краями
0,25	светло-прозрачная	Роста нет. Клетки сильно деформированные. Они превратились в бактериальную сеть, сплошь усыпанную мелкими зернами
0,3	светло-прозрачная	Роста нет. Клетки сильно деформированные с расплывчатыми с не ясно очерченными краями. Клетки превратились в бактериальную сеть, сплошь усыпанную мелкими зернами

ею выделены из нагорного (*Az. chroococcum* M-10⁻¹) и из низменного (*Az. agile* A-21) районов Армянской ССР.

Ниже приводим данные о росте и морфологических изменениях азотобактера под влиянием различных концентраций фенола*.

Как видно из табл. 1 и 2, при равных условиях культивирования (контроль) величина клеток азотобактера агиле заметно больше азотобактера хроококкум, причем

Таблица 2

Рост и морфологические изменения *Az. agile* штамма А-21 под влиянием различных концентраций фенола в жидкой среде Эшби

Концентрация фенола в ‰	Пигментация (окраска среды)	Морфологическая характеристика и величина клеток в микронах
Контроль	—	Мелкозернистые клетки диаметром 2,0—2,4—2,7—3—3,2 микрон и овальные клетки 4×3,2—4,42×2,88 микрон, расположенные одиночно, попарно, в короткие цепочки (4—6 клеток) и мелкими кучками
0,05	темно-бурая	Шаровидные и овальные мелкозернистые клетки 3×2, 4×3 и 5×4,2, расположенные попарно и в длинных цепочках. Встречаются и длинные цепочки, состоящие из 5 клеток, общей длиной в 20 микрон.
0,1	светло-прозрачного цвета	Овальные клетки 5×2, 4×3, расположенные попарно и в длинных цепочках. Встречаются одиночные клетки 2×2. Деление клеток несколько замедленное.
0,15	светло-прозрачная	Роста нет. Встречаются овальной формы клетки 6×5 с мелкими зернышками внутри
0,2	светло-прозрачная	Роста нет. Редко встречаются единичные клетки, сильно разбухшие, мелкозернистые в поперечнике 12—13 микрон.
0,25	светло-прозрачная	Роста нет. Редко встречаются единичные мелкозернистые клетки 3×3, 5×4, 4×3,5 микрон
0,3	светло-прозрачная	Роста нет. В десяти полях зрения встречается одна сильно разбухшая мелкозернистая клетка 6×5.

* Рост и величина клеток азотобактера как в контрольной в жидкой среде Эшби, так и в средах с содержанием различных концентраций фенола определялись в пятисуточных культурах.

они различны между собой и по пигментации. Так, цвет жидкой среды Эшби при концентрации фенола 0,05%, зараженной азотобактером хроококкум, принимает светло-бурю окраску, а зараженной азотобактером агиле—темно-бурю окраску. При содержании фенола в среде 0,05% величина клеток азотобактера хроококкум и агиле, значительно увеличивается. Как видно из табл. 1, при концентрации фенола 0,1% рост клеток азотобактера хроококкум приостанавливается, причем клетки сильно разбухают и сплошь усыпаны мелкими зернами. При концентрации фенола 0,2% встречаются сильно разбухшие мелкозернистые клетки азотобактера хроококкум размерами 8×8 ; 12×8 и 26×4 микрон, шаровидной, грушевидной, палочковидной формы с не ясно очерченными расплывчатыми краями. В большинстве случаев в поле зрения мы наблюдаем одну лишь бактериальную сеть, густо усыпанную мелкими зернами. При концентрации фенола 0,25 и 0,3% в жидкой среде Эшби клетки даже со слабо очерченными краями совершенно отсутствуют, взамен их мы наблюдаем сплошную бактериальную сеть, густо усыпанную мелкими зернами.

Примерно аналогичное явление мы наблюдаем у азотобактера агиле под влиянием фенола (табл. 2), с той лишь разницей, что клетки относительно более устойчивы к фенолу. Даже при концентрации фенола 0,1% они, хотя и очень замедленно, но слабо развиваются. При содержании фенола в среде свыше 0,1% клетки перестают развиваться, причем их гибель наступает настолько быстро, что они даже не успевают приспособиться к новым условиям, поэтому величина клеток остается на том же уровне, что и при концентрациях 0,5—0,1% фенола.

Необходимо отметить, что клетки азотобактера не в состоянии использовать фенол в качестве углеродистого питания. Контрольные исследования показали, что количество внесенного фенола в испытуемую питательную жидкую среду Эшби в процессе культивирования азотобактера в течение 13 суток оставалось без изменения. Поэтому азотобактер весьма болезненно реагирует на присутствие даже незначительных количеств фенола в питательной среде. Как

Видно из данных табл. 1 и 2, клетки азотобактера на селективной питательной среде Эшби под влиянием различных концентраций фенола претерпевают глубокие морфологические изменения вследствие происшедших в клетке глубоких изменений в обмене веществ. Воздействие на бактериальные клетки слабых концентраций фенола 0,1—0,15% привело к тому, что эти клетки будучи перенесены в среду, не содержащую фенол, не давали роста. Это говорит о том, что концентрация фенола 0,1% для азотобактера хроококкум и 0,15% для азотобактера агиле является бактерицидной.

В ы в о д ы

Среди многих видов микроорганизмов азотобактер является одним из наиболее чувствительных к фенолу. От присутствия фенола в жидкой питательной среде Эшби клетки азотобактера сильно набухают, деформируются, превращаясь в гигантские мелкозернистые клетки шаровидной, грушевидной и палочковидной формы с не ясно очерченными распылчатыми краями.

Концентрация фенола свыше 0,1% приводит к лизированию оболочки клеток и образованию бактериальной сети, густо усыпанной мелкими зернами. В концентрациях фенола 0,1% развитие азотобактера хроококкум полностью прекращается, а азотобактера агиле при 0,15%. Следовательно, азотобактер агиле сравнительно с азотобактером хроококкум является относительно более фенолостойким.

Концентрация фенола свыше 0,1% для азотобактера является сильно бактерицидной. Это видно хотя бы из того, что при обратном пересеве в свежую питательную среду Эшби, не содержащую фенола, развитие клеток азотобактера не происходит.

Լ. Շ. ԵՐԶԻՆԿՅԱՆ

ԱԶՈՏԱԲԱԿՏԵՐՆԵՐԻ ՄՈՐՖՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՖԵՆՈԼԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՆԵՐՔՈ

(Նախնական հաղորդում)

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Տեսական և գործնական մեծ հետաքրքրություն է ներկայացնում ազոտաբակտերիաների մորֆոլոգիական և ֆիզիոլոգիական հատկությունների վրա ֆենոլի ազդեցության որոշումը: Այս խնդրի ուսումնասիրությունը շատ կարևոր է հատկապես այն վայրերի համար, որտեղ արդյունաբերության, կոքսաքիմիական և այլ ճյուղերի արտադրանքների ֆենոլ պարունակող ջրախառն մնացորդները առանց վտանգազերծման բաց են թողնվում գետերը և հանրային օգտագործման ջրավազանները: Այդ մնացորդները թափվելով գետերի և հանրային օգտագործման ջրավազանների մեջ, կարող են վտանգավոր ազդեցություն ունենալ ոչ միայն զետեղում և ջրավազաններում բնակվող ձկների կամ այլ ջրերը խմող անասունների համար, այլ նաև այդ ջրերով ոռոգվող հողերում բնակվող ազոտաբակտերիաների համար:

Փորձերը ցույց են տվել, որ ազոտաբակտերիաների և կաթնաթթվային բակտերիաների համատեղ զարգացման ընթացքում զգալիորեն ակտիվանում է կաթնաթթվային բակտերիաների զարգացումը շնորհիվ ազոտաբակտերիաների արտադրած «Բ» խմբի վիտամինների: Նկատված է նաև, որ երբ անասուններին կամ թռչուններին կերակրում են կաթնաթթվային բակտերիաների և ազոտաբակտերիաների համատեղ կուլտուրայով, ապա նրանց քաշը և մթերատվությունը զգալիորեն բարձրանում է կոնտրոլի համեմատությամբ: Հետևաբար, ազոտաբակտերիաների ֆենոլազիմացկունությունը որոշելը կարող է գործնական նշանակություն ունենալ ինչպես գյուղատնտեսության համար, այնպես էլ անասնաբուժության և անասնաբուժության համար:

Մեր փորձերի նախնական տվյալները ցույց տվեցին, որ ազոտաբակտերիաները ֆենոլի թույլ կոնցենտրացիաների ազդեցության տակ ենթարկվում են մորֆոլոգիական և ֆիզիոլոգիական փոփոխությունների:

Մեր հետազոտական աշխատանքների համար ազոտաբակ-
տերների *Az. chroococcum* M—10, և *Az. agile* A—21 մաքուր կու-
լտուրաները՝ վերցրել ենք Հայկական ՍՍՌ-ի ԳԱ Միկրոբիոլոգիայի
ինստիտուտի ավագ դիտական աշխատակից Ա. Վ. Կիրակոսյանից, որը
այդ կուլտուրաները մեկուսացրել է Հայաստանի լեռնային և ցած-
րադիր վայրերի հողերից: Մեր փորձերը ցույց տվեցին, որ էջբիի
0,005% Ֆենոլ պարունակող հեղուկ սննդամիջավայրում վերահիշ-
յալ ազոտաբակտերիների զարգացումը դանդաղում է, բջիջները
որոշ չափով մեծանում են: էջբիի 0,1% Ֆենոլ պարունակող հե-
ղուկ սննդամիջավայրում ազոտաբակտերների զարգացումը հա-
մարյա դադարում է. բջիջներն ավելի են մեծանում, ուռչում, իսկ
բջիջների ներսում առաջանում են մեծ թվով մանր հատիկներ: Այդ
նույն սննդամիջավայրում Ֆենոլի 0,15—0,2% կոնցենտրացիանե-
րի դեպքում ազոտաբակտերները չեն աճում: Այս դեպքում պա-
տահում են մեծ քանակությամբ է՛լ ավելի խոշոր (*Az. chroococ-*
com-ի) բջիջներ՝ 8×8 ; 12×8 ; $26 \times 4 \mu$ մեծությամբ: Ազոտաբակ-
տերների բջիջները 0,15—0,2% Ֆենոլի ազդեցությամբ ներքո ալ-
և կորցնելով իրենց ուրուլն որոշակի ձևը, վեր են ածվում մանր
հատիկավոր բակտերիալ ցանցի:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Африкян Э. К. и Арутюнян Р. Ш., О действии антибиотиков на азотобактер. Вопросы сельскохозяйственной и промышленной микробиологии, выпуск I (VII), АН АрмССР, 1953.
2. Depoux R., Influence de divers antibiotiques sur la morphologie des azotobacter. Annales de l'Institut Pasteur 84, 3. Paris, 1953.
3. Ерзинкян Л. А., Пахлеваниян М. Ш. и Мурадян Е. А., К вопросу о фенолостойкости *Lactobacterium acidophilum*. Вопросы сельскохозяйственной и промышленной микробиологии, выпуск I (VII), АН АрмССР, 1953.
4. Ерзинкян Л. А., Влияние фталазола и синтомицина на развитие молочнокислых бактерий. Известия Академии наук АрмССР биол. и с.-х. науки, том X, № 9, 1957.
5. Овчарова Т. П., Морфологические изменения дизентерийных палочек под влиянием синтомицина. Журнал Микробиологии эпидемиологии и иммунологии, 10, 1952.
5. Полонская М. С., Леонович В. В., Бибердиева М. П., Поперекова Т. М. Совместные культуры ацидофильных бактерий с азотобактером. Бюллетень научно-технической информации по сельскохозяйственной микробиологии. № 3, Всесоюзного научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии, 1957.