ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ: ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР. БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
т. XXV, № 2, 1972

УДК 576.85

Г. Е. МАРКОСЯН

НОВАЯ ЖЕЛЕЗООКИСЛЯЮЩАЯ БАКТЕРИЯ — LEPTOSPIRILLUM FERROOXIDANS NOV. GEN. NOV. SP.

При исследовании месторождений меди в АрмССР, кроме обычных форм тионовых бактерий на минеральных средах, применяемых для выделения Thiobacillus ferrooxidans, были обнаружены мелкие спирально-закрученные клетки. Как известно, T. ferrooxidans имеет прямые палочковидные клетки; изогнутые формы у него не наблюдались. В связи с необычной морфологией выделенной нами железоокисляющей бактерии-спириллы было проведено ее детальное исследование.

Посевным материалом для выделения описываемого микроорганизма служили образцы рудничных вод и окисленных руд Алавердского и Ахтальского месторождений. Высев культуры производили на средах Летена [1] и 9к [2]. Чистая культура спириллы была получена на силикагеле, пропитанном средой 9к. При этом образовались микроскопические колонии, окрашенные окислами железа. Пересевы колоний в жидкую среду привели, в конечном счете, к получению чистой культуры. Для проверки чистоты культуры были использованы следующие критерии: отсутствие роста на органических средах, минеральных средах для тионовых бактерий, а также однотипная морфология клеток. Особое внимание уделялось проверке чистоты культуры от загрязненности ее T. ferrooxidans. По всем указанным критериям культура была признана чистой.

Выделенная спирилла растет на кислых минеральных средах с pH в пределах от 1,5 до 4,0, с оптимумом 2,5—3,0. Окисляемым веществом является двухвалентное железо в виде сернокислой соли. При замене железа восстановленными соединениями серы роста микроорганизма не наблюдалось. Не отмечалось роста также на среде Ваксмана с элементарной серой, на среде Бейеринка с тиосульфатом натрия и на среде Виноградского для нитрификаторов. Бактерия не растет на нейтральных и подкисленных (pH 3—5) средах, предназначенных для гетеротрофных микроорганизмов (МПА, МПБ, желатин, пептонная вода, пептонная вода с дрожжевым аутолизатом, сусло-агар, крахмало-аммиачный агар, Эшби), и на средах для спирохет, приготовленных из кроличьей и лошадиной сывороток с добавлением гемоглобина. Выделенная бактерия не развивается также на средах Летена и 9к при замене закисного железа глюкозой, сахарозой, маннитом, крахмалом, метанолом, этанолом, солями муравьиной, уксусной, молочной и лимонной кислот, аспарагином, глутаминовой кислотой и пептоном в концентрациях 0,1—0,5%.

При изучении влияния органических веществ на рост бактерии и окисление железа в средах Летена и 9к наблюдается следующее: глюкоза, сахароза, маннит, крахмал, лимоннокислый натрий в концентрациях 0,1—

0,5% не оказывали заметного влияния. Задерживающее действие на рост бактерий и окисление железа оказывали мочевина, аспарагин, глутаминовая кислота, пептон, кроличья и лошадиная сыворотки в указанных концентрациях. В присутствии метанола, этанола, солей муравьиной и уксусной кислот уже в концентрациях 0,1% рост бактерий и окисление железа подавляются полностью.

Из источников азота культура хорошо использует соли сернокислого аммония. Рост культуры и окисление железа наблюдаются на нитратных солях и мочевине, хотя в этом случае указанное задерживается на несколько дней.

Кривые роста описываемого микроорганизма и его способность к окислению железа на среде 9к приводятся на рис. 1 и 2. Как видно из рисунков, увеличение числа клеток и окисление железа происходят после лаг-фазы, продолжающейся около 4 суток. После лаг-фазы в течение 2 суток происходит полное окисление железа (около 9 г/л). Концентрация клеток при этом достигает до 1 млрд/мл.

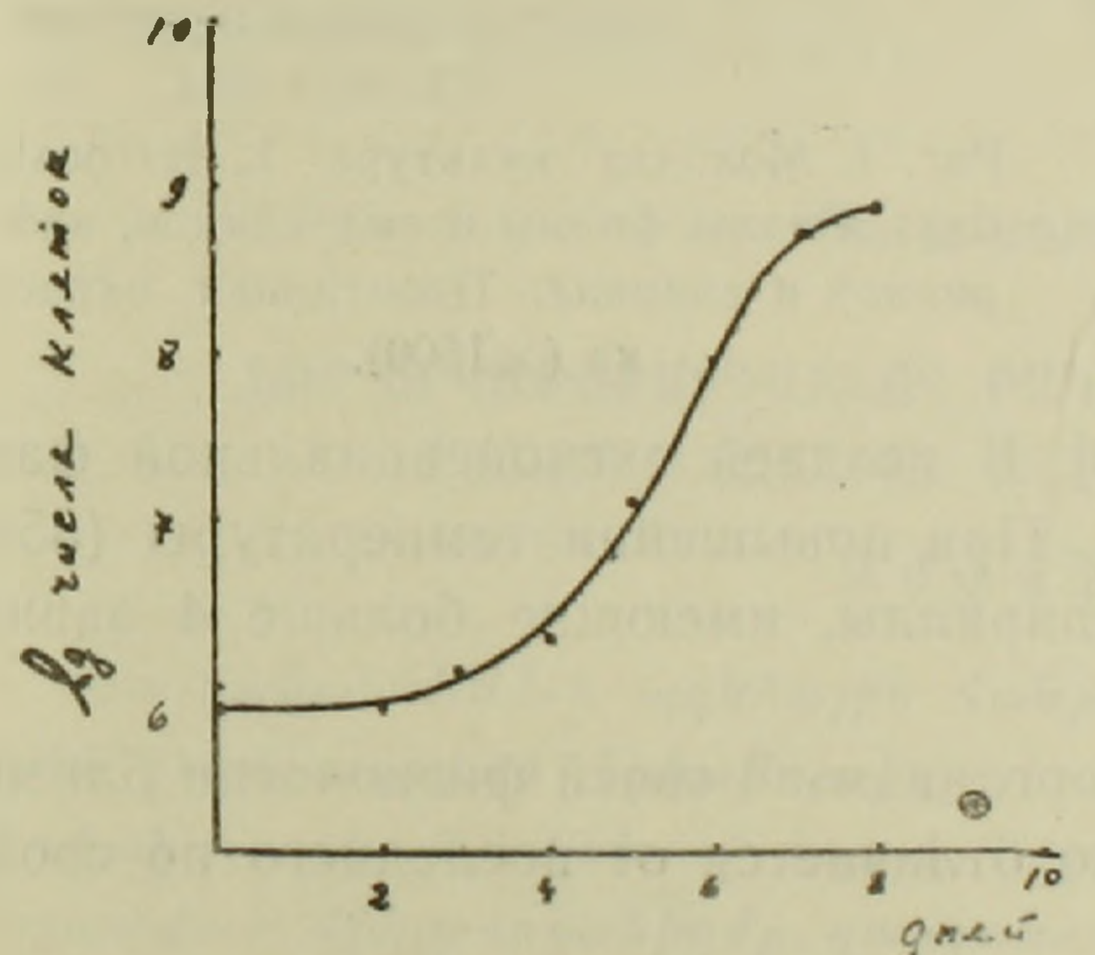

Рис. 1. Кривая роста L. ferrooxidans в среде 9к, на качалке (200 об/мин) при при 28°.

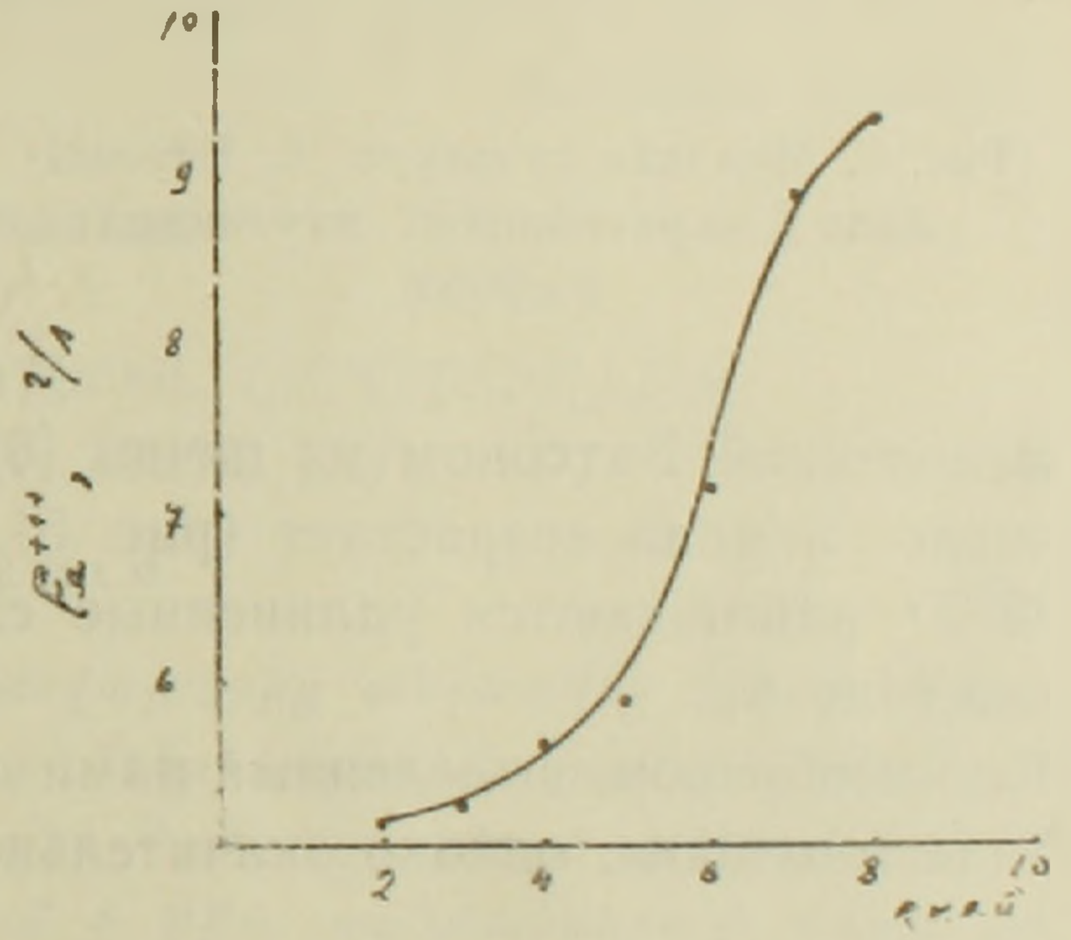

Рис. 2. Кривая окисления железа в среде 9к на качалке (200 об/мин) при 28°.

Таким образом, рост выделенной нами бактерии на большинстве отмеченных сред аналогичен росту T. ferrooxidans [3, 4]. Основное различие выделенной бактерии от T. ferroxidans заключается в ее неспособности развиваться на минеральных средах, содержащих в качестве энергетического субстрата соединения серы. В этом отношении по своей физиологии, выделенная бактерия идентична Ferrobacillus ferrooxidans, как ее описывали Летен с сотруд. [5].

В отличие от до сих пор описанных железоокисляющих бактерий, выделенный нами микроорганизм является спириллой, которая имеет своеобразный цикл развития. Она может быть описана как мелкая, спирально закрученная палочка, варьирующая в длине 1,0—3,5 мк, в поперечнике 0,3—0,6 мк. Число завитков—1—2, реже 3—4, встречаются длинные спиральные нити, имеющие больше 4 завитков. Подвижные благодаря наличию одного полярного жгутика (рис. 3). По мере развития культуры

морфология клеток изменяется. В ранней фазе роста клетки имеют форму вибрионов и коротких спирилл, встречаются также псевдококки (рис. 4). Подобная картина отмечается и у Nitrosospira briensis, вновь

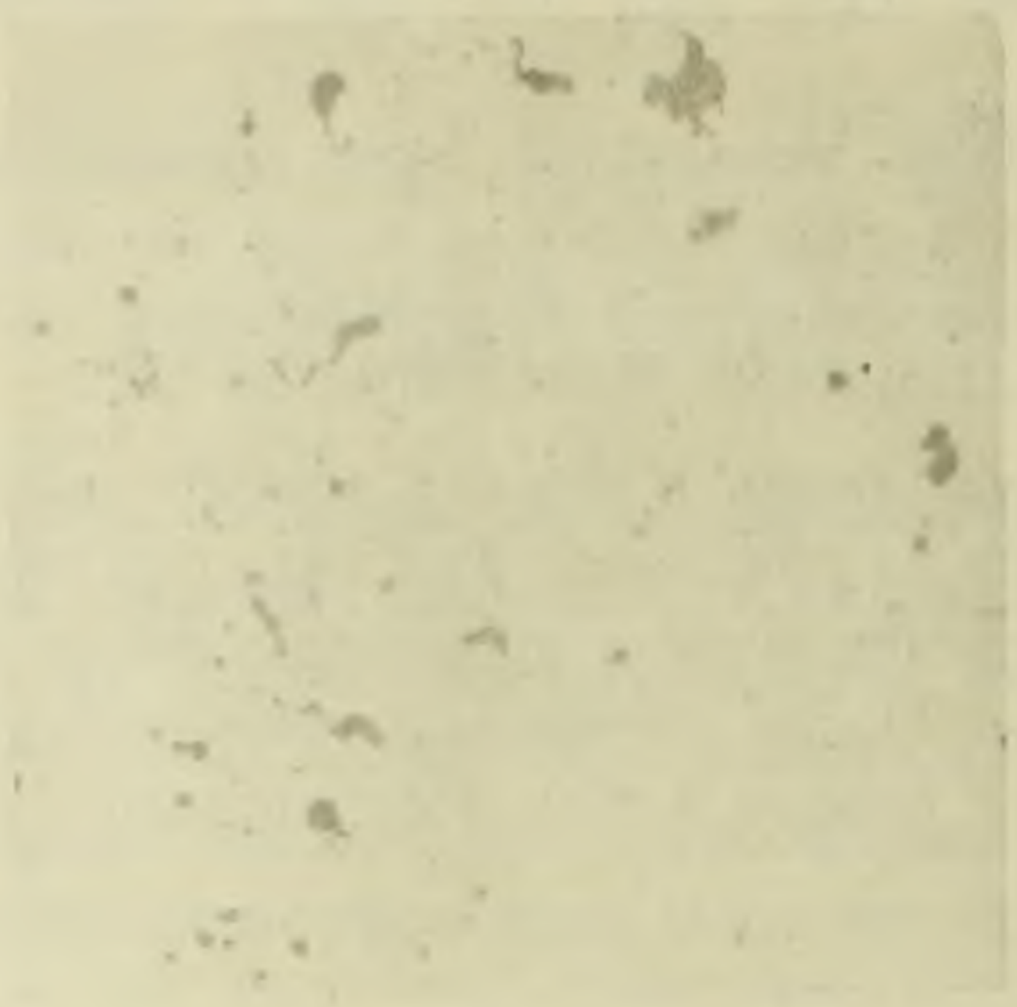

Рис. 3. Молодая культура L. ferrooxidans с окрашенными жгутиками (×2000).

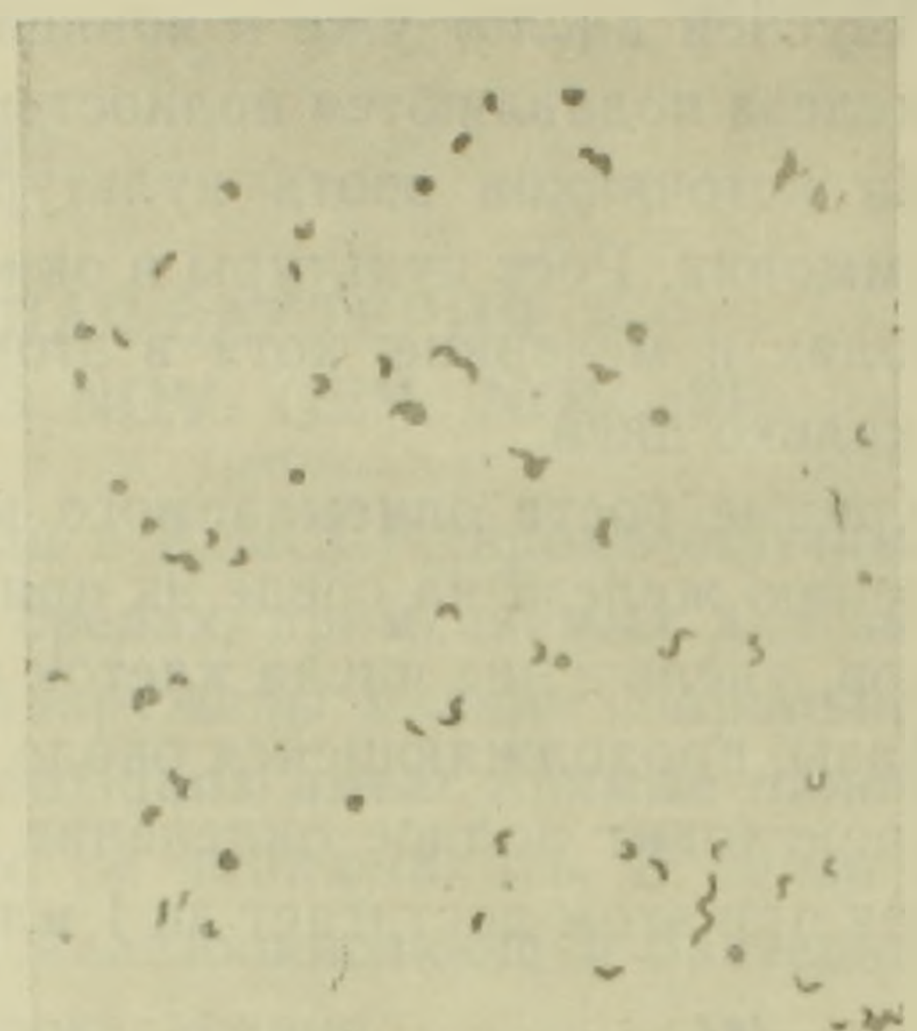

Рис. 4. Молодая культура L. ferrooxidans. Видны формы псевдококков, вибрионов и спирилл. Позитивная окраска (×1500).

выделенной Ватсоном из почвы [6]. В поздней экспоненциальной фазе число спирилл возрастает (рис. 5). При повышении температуры (35—38°С) наблюдаются удлиненные спириллы, имеющие больше 4 завитков (рис. 6).

Таким образом, выделенный нами организм по своей физиологии близок T. ferrooxidans, однако значительно отличается от последнего по своей

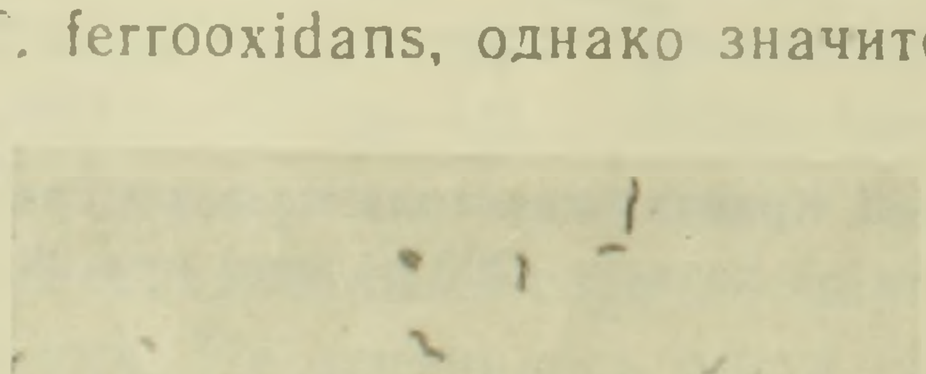

Рис. 5. 8-ми суточная культура L. ferrooxidans. Позитивная окраска (× 1500).

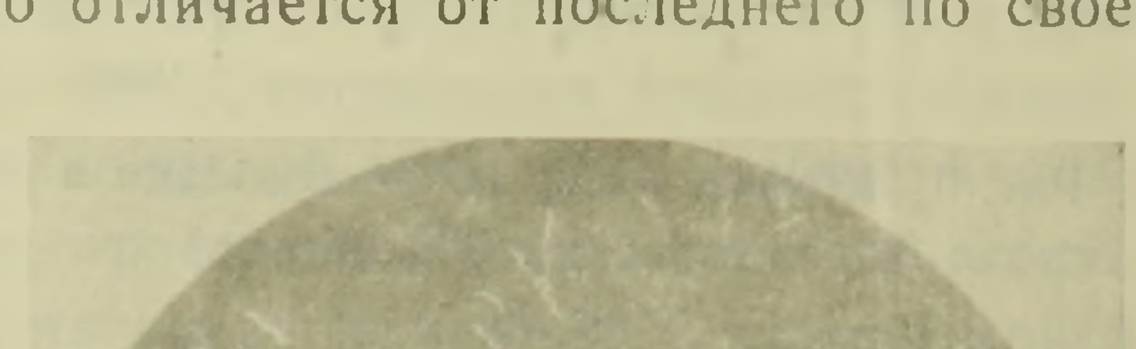

Рис. 6. 10-ти суточная культура L. ferrooxidans. Рост бактерии при повышеннoа температуре (35—38°). Негативная окраски (× 900).

морфологии, что делает возможным выделение его в самостоятельный род семейства Spirillaceae под названием Leptospirillum с типовым видом Leptospirillum ferrooxidans со следующим диагнозом:

Клетки мелкие, 0,3—0,6×1,0—3,5 мк, спирально изогнутые. Наблюдается своеобразный цикл развития с образованием псевдококков, вибрионов и спирилл. Неспоровая, подвижная, имеет один полярный жгутик. Окраска по Граму отрицательная; автотроф, развивается в кислых условиях (pH 1,5—4,0), на минеральных средах, содержащих сернокислое закисное железо. Энергию получает при окислении закисного железа в окисное. Способность использования органического вещества в качестве энергетического субстрата для роста не обнаружена. Не используются в этом отношении и соединения серы. Аэроб, мезофил, оптимум pH 2,5—3,0.

Организм обнаружен в рудничных водах и окисленных рудничных телах, медных и полиметаллических месторождениях АрмССР. Типовой вид L. ferrooxidans выделен из рудников Алавердского медного месторождения.

Институт микробиологии
АН АрмССР

Поступило 5.I 1972 г.

Գ. Ե. ՄԱՐԿՈՍՅԱՆ

ՆՈՐ ԵՐԿԱԹՕՔՍԻԴԱՑՆՈՂ ԲԱԿՏԵՐԻԱ LEPOTSRILLUM FERROOXIDANS NOV. GEN. NOV. SP.

Ա մ փ ո փ ո ւ մ

Հայկական ՍՍՀՄ-ի պղնձային հանքավայրերից անջատվել է նոր, մինչև այժմ չնկարագրված երկաթօքսիդացնող միկրոօրգանիմ, որը իր ֆիզիոլոգիական հատկություններով մոտ է հայտնի T. ferrooxidans բակտերիային։ Անջատված միկրոօրգանիզմը զարգանում է թթու պայմաններում հանքային միջավայրերի վրա։ Որպես էներգիայի աղբյուր օգտագործում է միայն երկաթի երկօքսիդի աղերը։

Ի տարբերություն մինչ այսօր նկարագրված թթու միջավայրում երկաթօքսիդացնող բակտերիաների T. ferrooxidans, F. ferrooxidans, որոնք ունեն ձողաձև բջիջներ նոր անջատված միկրոօրգանիզմը ունի ոլորուն սպիրալաձև բջիջ և պատկանում է Spirillaceae ընտանիքին։ Այդ կապակցությամբ նկարագրվող սպիրիլան առանձնացվել է որպես առանձին ցեղ Leptospirillum անվան տակ, L. ferrooxidans տիպային տեսակով։

ЛИТЕРАТУРА

1. *Кузнецов С. И., Романенко В. И.* Микробиологическое изучение внутренних водоемов. Изд. АН СССР, М., 1963
2. *Лялнкова Н. Н.* Физиология и экология T. ferrooxidans в связи с его ролью в окислении сульфидных руд. Автореферат канд дисс. М., ИНМИ, 1958.
3. *olmer A. R., Temple K. L., Hinkle M. E. J.* Bacteriol, 59, 317, 1950.
4. *Silverman M. P., Lundgren D. G.* J. Bacteriol, 77, 5, 642, 1959.
5. *Leathen W W., Braley S. A.* Bacteriol, Proc, 44, 1954.
6. *Watson S. W.* Arch Mikrobiol. 75, 3, 179, 1971.