

А. К. Павосян

**Влияние концентрации солей (хлоридов) на осмотическое
давление бактериальной клетки**

(Представлено С. К. Карапетяном 23 XI 1945)

При изучении специфических морфологических и физиологических сторон галофильных растений мы⁽³⁾ установили, что соли хлора, в частности NaCl, сильно влияют на осмотическое давление в клетках этих растений. Об этом, как известно, имеются многочисленные свидетельства. Но насколько обстоятельно изучено влияние хлора на растения, настолько же смутны сведения о влиянии этого элемента на развивающиеся в засоленных почвах бактерии. Поэтому мы сочли необходимым, во время наших исследований, изучить также этот весьма важный вопрос, что даст нам возможность выяснить причину своеобразных морфологических и физиологических свойств микроорганизмов, развивающихся в засоленных почвах.

Для исследования поставленного вопроса мы сочли правильным взять как объект бактерии одной и той же физиологической группы, как из засоленных почв, так и культурных. Мы остановились на бактериях типа *Azotobacter chroococcum* и типа *Bac. mycolides*.

При изучении этих бактерий были использованы выработанные нами питательные среды, приготовленные на экстрактах засоленной почвы и культурной почвы, но с разными дозами хлоридов. Нами ранее⁽³⁾ было доказано, что в вытяжке засоленной почвы хлора довольно много. При приготовлении питательной среды из этой вытяжки мы разбавлением постепенно убавляли количество хлора до степени, соответствующей количеству этого элемента в вытяжке культурной почвы. И, наоборот, при приготовлении питательной среды на вытяжке из культурной почвы, к последней постепенно прибавлялся хлор до степени, равной количеству этого элемента и вытяжке засоленной почвы. Затем подготовленные питательные среды уравнивались по составу основных питательных соединений, необходимых для упомянутых двух физиологических групп бактерий. Это делалось для того, чтобы упомянутые питательные среды были тождественны по составу и отли-

чались по составу хлорных соединений. Приготовленные для опытов питательные среды имели следующий процент хлора:

I.	1.	Питательная среда на экстракте засоленной почвы	— Cl*	1,0%
	2.	" " " " " "	— Cl	0,5%
	3.	" " " " " "	— Cl	0,25%
	4.	" " " " " "	— Cl	0,12%
	5.	" " " " " "	— Cl	0,06%
	6.	" " " " " "	— Cl	0,03%
II.	1.	" " " " " " культурной	— Cl	1,0%
	2.	" " " " " "	— Cl	0,5%
	3.	" " " " " "	— Cl	0,25%
	4.	" " " " " "	— Cl	0,12%
	5.	" " " " " "	— Cl	0,06%
	6.	" " " " " "	— Cl	0,03%

Указанные проценты Cl в вытяжках этих двух видов почв получены следующим образом: 1) т. к. в вытяжке засоленной почвы уже имеется Cl 1,0%, то для убавления последнего мы прибавляли соответствующее количество дистиллированной воды и добавляли все необходимые элементы этой вытяжки до естественного состава экстракта (конечно, кроме хлора); 2) т. к. в экстракте культурной почвы имеется Cl 0,03%, то для повышения этого процента к естественной вытяжке прибавлялось соответствующее количество NaCl с таким расчетом, чтобы получить вышеприведенные концентрации Cl. В этих растворах мы начали выращивать *Bac. typhimurium* и азотфиксирующие бактерии, выделенные из засоленных и культурных почв. При этом прослеживался их рост, величина (длина и ширина) и объем их клеток, состояние протоплазмы и оболочки.

Для учета степени осмотического давления бактериальной клетки мы использовали метод Гедена, видоизмененный Мишустиным^(2,6).

Как известно, вопросом определения осмотического давления бактериальной клетки занимались многие ученые. Еще Фишер⁽⁴⁾ в 90-ых годах прошлого столетия показал, что можно получить плазмолиз в бактериальной клетке, если повысить концентрацию в капле жидкости с бактериями на предметном стекле. Он показал также, что у шарообразных бактерий плазмолиз происходит легче, чем в палочкообразных клетках.

Рамер⁽⁷⁾ во время своих исследований заметил, что в вибрионах холеры может произойти плазмолиз, между тем как в палочкообразных клетках *Bac. subtilis*, *Bac. anthracis* и других бактерий это явление не имеет места. На основании сказанного Фишер делил все бактерии на две группы; к первой группе он отнес бактерии, способные к плазмолизу под воздействием различных веществ, ко второй группе — не показывающие явления плазмолиза. Исходя из своих наблюдений, Мишустин не соглашается с этой группировкой Фишера, поскольку у бактерий плазмолиз проявляется не совсем так, как у растений. Имеются

* Расчет дан на ион хлора.

проверенные данные, что плазмолиз происходит также у ряда палочкообразных бактерий; например, Мигула* указывает, что плазмолиз можно очень хорошо наблюдать в клетках *Bac. oxalaticus*. Гинце (5) же утверждает, что клетки *Beggiatoa merabilis* и *Thiophysa volutans* в гипертоническом растворе плазмолизировались необычно: клетки сжимались без заметного отставания от оболочки. На основании изложенного специфического поведения бактерий в гипертонической среде Мишустин вполне справедливо отмечает, что вопрос о плазмолизе бактериальной клетки нельзя считать решенным, и имеющиеся противоречия приписывает погрешностям применяемой разными авторами методики. К этой точке зрения по существу присоединился тоже Имшинецкий (1).

В наших исследованиях мы применяли выработанный Мишустиним объемный метод, который, несомненно, является наиболее целесообразным из существующих методов и дает достаточно правильные данные об осмотическом или, вернее, — интрацеллюлярном давлении клетки.

Как это изложено у Мишустина, перед опытом бактериальная масса смешивалась с соответственным почвенным экстрактом и, для получения гомогенной извести, бактериальная муть профильтровывалась через бумажный фильтр. Вслед за этим в особые пробирки типа Троммздорфа наливалось равное количество культуры, и пробирки подвергались центрифугированию в течение 10 минут при 3 тысячах оборотов в минуту. Бактерии при этом оседали в капилляре, и их объем изменялся. После этого жидкость из всех пробирок, за исключением контрольных (т. е. с экстрактом солончаковой почвы и экстрактом садовой почвы) сливалась и заменялась растворами различных концентраций поваренной соли. Продуванием воздуха через капилляр бактерии замучивались и на 15 минут оставались стоять в покое. По истечении указанного времени пробирки вторично центрифугировались, после чего вычислялось изменение объема бактериальной массы по отношению к контролю. С контрольной пробиркой проделывалась та же операция, что и с опытными.

Мы здесь не приводим подробно все данные, полученные в результате наших экспериментальных работ, а лишь находим необходимым указать на величину осмотического давления в клетке этих двух групп бактерий при различных концентрациях хлор-иона.

Как видно из данных, осмотическое давление бактерий повышается параллельно увеличению в среде процента хлоридов, однако, это повышение имеет свой максимум. Осмотическое давление в клетках азотобактера при его росте в условиях засоленной почвы получается более высоким. Оно понижается даже в экстракте засоленной почвы в случае уменьшения количества хлор-иона. Если в условиях натурального экстракта оно равняется 24,5 атм, то при 0,25% Cl уже имеет 18,3 атм; при меньшем количестве Cl хлоридов культура уже не развивается. Как видно, бактерии приспособились к содержанию опреде-

* Цитир. по работе Мишустина (6).

Таблица 1

П и т а т е л ь н а я с р е д а	Azotobacter chroococcum				V a s. t u s c o i d e s			
	Из солончака		Из садовой почвы		Из солончака		Из садовой почвы	
	Плазмолиз при кон- центрации	Осмотич. давлен. в атм.						
Экстракт засоленной почвы								
• " • Cl 1,0%	6,4	24,5	Роста	нет	6,4	24,5	Роста	нет
• " • Cl 0,5%	5,2	20,0	•	•	5,8	22,5	•	•
• " • Cl 0,25%	4,8	18,3	3,8	14,5	5,2	20,0	3,5	15,0
• " • Cl 0,12%	Роста	нет	3,2	12,3	4,5	17,3	3,2	12,3
• " • Cl 0,06%	•	"	2,6	10,0	Роста	нет	2,6	10,0
• " • Cl 0,03%	•	•	2,1	8,0	•	•	2,4	9,0
Экстракт культурной почвы								
• " • Cl 0,03%	Роста	нет	2,1	8,0	Роста	нет	2,4	9,0
• " • Cl 0,06%	•	•	2,6	10,0	3,8	14,5	3,2	12,3
• " • Cl 0,12%	4,5	17,3	3,1	12,0	4,8	18,3	3,4	13,5
• " • Cl 0,25%	5,2	20,0	3,8	14,5	5,2	20,0	3,5	15,0
• " • Cl 0,5%	5,8	22,4	Роста	нет	5,8	22,4	Роста	нет
• " • Cl 1,0%	6,4	24,5	•	•	6,4	24,5	•	•

ленного количества солей в среде, имеют давление определенного порядка и, если в среде резко меняется обстановка, их клетки перестают развиваться.

То же самое наблюдается в среде с экстрактом садовой почвы.

В клетках азотобактера засоленных почв, при их развитии в экстракте культурной почвы с низкой концентрацией хлор-ионов, осмотическое давление понижается до 17,3 атм. Здесь они в условиях низкой концентрации не развиваются. Осмотическое давление клеток азотобактера из культурной почвы по сравнению с осмотическим давлением азотобактера засоленных почв низко, оно едва имеет 8,0 атм. На солевых средах последнее из-за увеличения концентрации NaCl несколько повышается и доходит до 14,5 атм (при хлоре в 0,25%). При концентрации хлор-ионов свыше 0,5% бактерии больше не развиваются.

У *Vas. mycoides* наблюдаются те же закономерные изменения, лишь с той разницей, что бактерии из этой группы имеют более высокое осмотическое давление и поэтому более устойчивы по отношению к изменениям концентрации хлоридов.

Из анализа приведенных данных мы можем заключить, что бактерии, живущие в почвах с различным составом, имеют резкую зависимость степени осмотического давления клетки от концентрации солей в этих почвах. В почвах с различной концентрацией хлоридов клетки бактерий одной и той же физиологической группы приобретают разные морфологические свойства. Конечно, изменение морфологических признаков влечет за собой также изменения в характере рода физиологических процессов в клетках.

Сектор микробиологии
Академии Наук Арм. ССР
Ереван, 1945, ноябрь.

2. 4. ՓԱՆՈՍՅԱՆ

Ազերի (ֆլորիդների) կոնցենտրացիայի ազդեցությունը բակտերիալ բջիջների օսմոտիկ ճնշման վրա

Աղայնության տարրեր կոնցենտրացիա ունեցող հողերում բնակվող միևնույն ֆիզիոլոգիական խմբի բակտերիաների բջիջներն ունեն իրարից խիստ տարբերվող օսմոտիկ ճնշման աստիճան. այդ գործում վճռական նշանակություն ունեն քլորիդները, որոնք օսմոտիկ ճնշման աստիճանի փոփոխմանը զուգընթաց փոխում են նաև բակտերիալ բջիջների թե մորֆոլոգիական և թե ֆիզիոլոգիական հատկանիշները:

The influence of salts (chlorides) on the osmotic pressure of the bacterial cells

The bacterial cells of the same physiological group, inhabiting in the soils which have different salt concentration, have different degrees of osmotic pressure.

In that feature, deciding role belongs to the chlorides, which parallel to the change of osmotic pressure degree, are also changing the morphological as well as physiological characters of the bacterial cells.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Имшинецкий*. Микроб., 8, вып. 5, 1937.
2. *Мишустин и Мессинева*. Микроб., 2, вып. 1, 1933.
3. *А. К. Памосян*. Окисление серы и серного колчедана в солончаковых и несолончаковых почвах Армянской ССР и сульфифакторы солончаковых почв, Ереван, 1940.
4. *Fischer*. Jahrb. f. Wiss. Botanik, 37, S. 1. 157, 1895.
5. *Hinze*. Vr. Deut. Bot. Ges. 21, S. 309, 1913.
6. *Mischustin*. Zentr. für Bacter. II Abt. Bul. 93, S. 131, 1936.
7. *Rohmer*. Zentr. für Bacter. 13, S. 786, 1893.