

УДК 576.8.094.1:095.323.5

МИКРОБИОЛОГИЯ

Э. У. САНЖИЕВА, Г. А. ЗАВАРЗИН

## БАКТЕРИЯ, ОКИСЛЯЮЩАЯ ОКИСЬ УГЛЕРОДА

(Представлено академиком А. А. Имшенецким 27 IV 1970)

Способность микроорганизмов потреблять СО как донатор электронов известна с начала века (1). Культура аэробного микроорганизма, окисляющего СО и Н<sub>2</sub>, была получена Кистнером (2, 3), который назвал его *Hydrogenomonas carboxydovogans*. Организм был типичной псевдомонадой, рос в минеральной среде с добавлением 1% сточной жидкости или 0,1% дрожжевого экстракта и адаптивно окислял СО и Н<sub>2</sub>. Повторные попытки выделить хемоавтотрофный СО-окисляющий организм оказались безрезультатными (4). Предполагалось, что СО, как дыхательный яд, ингибирует терминальные оксидазы, и рост возможен лишь на свету, когда происходит фотодиссоциация СО-соединений (5).

Из сточных вод Люблинской станции нами была получена накопительная культура на жидкой минеральной среде в атмосфере 80% СО и 20% О<sub>2</sub>. В этой культуре развивалось большое число органотрофных организмов, что было известно (6), в частности миксобактерия *Polyangium* (6).

Из накопительной культуры была выделена псевдомонада, которая росла на жидкой среде в присутствии сточной жидкости в атмосфере, содержащей СО или Н<sub>2</sub>. По-видимому, этот организм аналогичен описанному Кистнером. Однако слабый его рост делал работу с ним неперспективной.

После ряда неудач опыты были продолжены на накопительной культуре из аэротенков Люблинской станции Мосочиствод, которую вели на минеральной среде для водородных бактерий с добавлением микроэлементов (7). При культивировании с перемешиванием культура достигала значительной мутности, а давление в накопительной культуре за 5 суток падало на 1/3, что соответствует потреблению газа в реакции:  $2\text{CO} + \text{O}_2 = 2\text{CO}_2$ .

Количество образовавшейся углекислоты также соответствовало расчетному. На 1 моль выделенной углекислоты в накопительной культуре образовывалось  $1,20 \pm 0,15$  г сухого веса биомассы.

Микроскопическое исследование показало присутствие трех бактериальных форм, а при высеве на агар в атмосфере СО + О<sub>2</sub> появились колонии трех типов. Выделенные из них культуры получили обозначение Z = 1062, Z = 1061, Z = 1063. Штамм Z = 1061 оказался миксобактерией *Polyangium fumosum* и развивался в чистой культуре на плотных питательных средах за счет агар-агар и за счет спутников в жидкой накопительной культуре (8). Штамм Z = 1063 был псевдомонадой, аналогичной выделенной ранее. Штамм Z = 1062 рос на жидкой минеральной среде в атмосфере СО + О<sub>2</sub>. Смесь всех чистых культур не давала урожая, превышающего урожай Z = 1062, который на этом основании и был признан основной культурой, окисляющей окись углерода. Очистка и поддержание чистой культуры Z = 1062 представляет определенные трудности из-за плохого роста организма на агаризованных средах. Ниже дается описание организма.





Рис. 1. Электронные микрофотографии *Seliberia carboxydohydrogena*. Окраска ФВК. *а* — начало образования розетки — выявлена винтовая структура поверхности; *б* — деление клеток в розетке (в центре розетки — прикрепительный материал, жгутики прилегают к стенкам); *в* — шаночки прикрепительного материала на полюсе клетки; *г* — сформировавшаяся розетка из 13 клеток с винтовой скульптурой оболочки

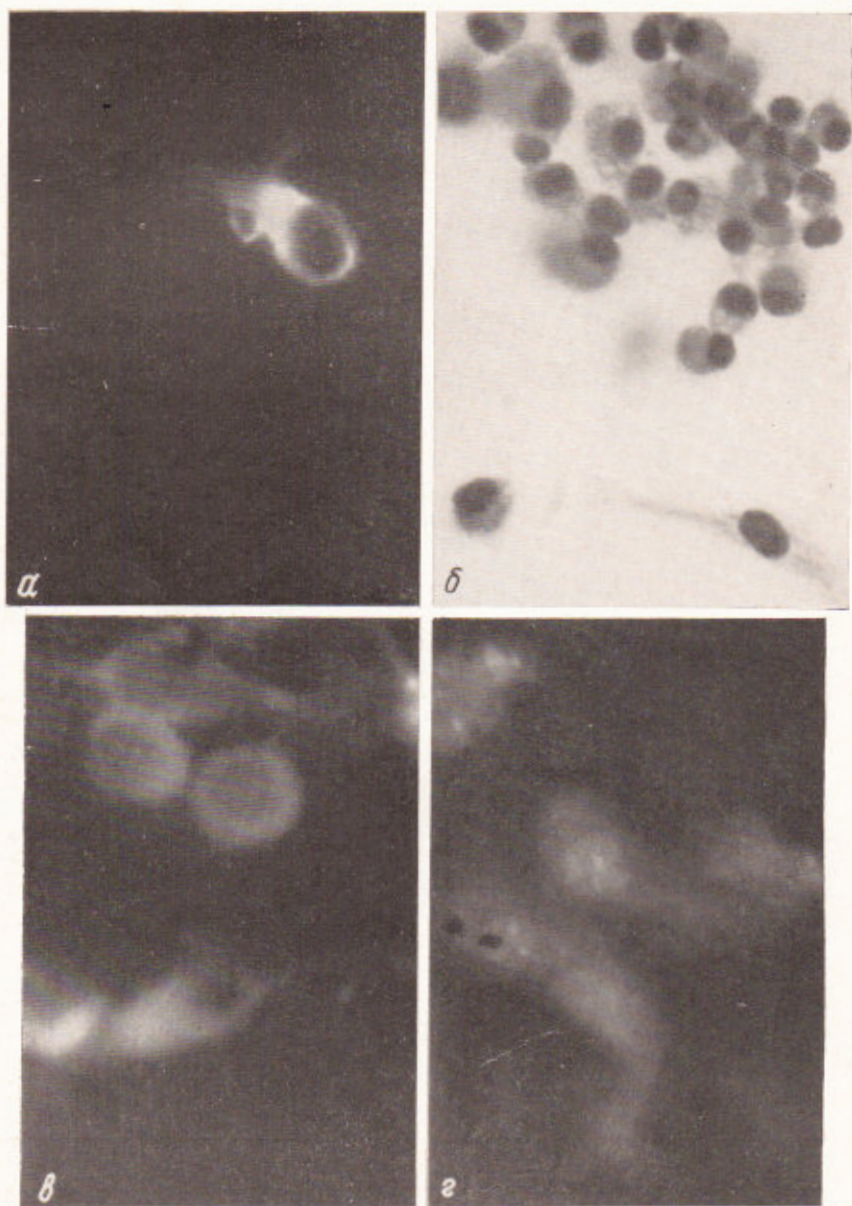


Рис. 2. *a* — антиген в цитоплазме моноцита мыши, забитой через 3 суток после инфицирования вирусом Коксаки А7; *b* — трехсуточная культура перитонеальных макрофагов мышей; *v* — антиген в цитоплазме клеток культуры макрофагов через 5 суток после инфицирования вирусом Коксаки А7; *z* — антиген в ядерной субстанции клеток культуры макрофагов через 5 суток после инфицирования вирусом герпеса. Непрямой метод флуоресцирующих антител. *a, v, z* — 800 $\times$ ; *b* — 400 $\times$ .



Морфологически организм представляет собой мелкую, искривленную палочку (рис. 1) варьирующей длины ( $0,3 \times 0,8 \div 2,0 \mu$ ), на определенных стадиях развития оживленно подвижную благодаря длинному субтерминальному жгутику. Грам-отрицательный. Характерным признаком является образование звездчатых агрегатов, в которые собираются клетки, прикрепляясь к общему центру. Подвижные дочерние клетки образуются на обращенных наружу концах. Они обычно короче радиально расположенных материнских клеток. Под электронным микроскопом обращает на себя внимание винтообразная скульптура поверхности клетки, хорошо видимая при негативной окраске фосфорно-вольфрамовой кислотой (ФВК) и плохо — при напылении, менее регулярная, чем у *Seliberia stellata*. На одном из полюсов длинных клеток имеется шапочка вещества прикрепительного диска, хорошо контрастируемая ФВК.

Организм использует в качестве единственного источника углерода и энергии следующие органические кислоты (в порядке накопления биомассы в среде с 0,1% вещества): янтарную, яблочную, пировиноградную, молочную, уксусную, лимонную. На большинстве сахаров аминокислотах и спиртах роста нет. Кроме перечисленных, организм может расти на винной и муравьиной кислотах (концентрация та же), которые, возможно, служат донаторами  $H_2$ . На метаноле и метане роста нет.

При росте в смеси водорода, кислорода и углекислоты организм развивается с короткой фазой задержки. Рост диффузный, вполне аналогичный росту других водородных бактерий с тем отличием, что на стенках сосуда образуется тонкая пленка прилипших бактерий, а агрегаты бактерий образуют микроскопические хлопья.

Рост в атмосфере окиси углерода и кислорода идет после фазы задержки и медленнее, чем рост в атмосфере с водородом. При одинаковом содержании в смеси кислорода урожай с окисью углерода составляет 50—65% от урожая при использовании водорода. Время удвоения в атмосфере  $CO + O_2$  около 24 час., а урожай клеток порядка 1 г/л (сухой вес). Типичные кривые роста приведены на рис. 2.

При предварительном исследовании в спектрофотометре СФ-10 суспензии бактерий оказалось, что в ней обнаруживаются отчетливые пики цитохромов b и c.

По своему таксономическому положению культура  $Z = 1062$  ближе всего соответствует группе *Agrobacterium — Rhizobium — Seliberia* (\*, \*). Нефитопатогенные бактерии исключаются сейчас из рода *Agrobacterium* (10). Свободноживущими являются бактерии рода *Seliberia*.

В задачу работы не входит пересмотр таксономии этой группы, но употребление лабораторных номерных обозначений неудобно, и организм  $Z = 1062$ , отличающийся способностью к автотрофному росту за счет  $CO$  (или)  $H_2$ , должен получить видовое обозначение. Предлагается в соответствии со способностью его окислять горючие газы название *Seliberia carboxyhydrogena* со следующим диагнозом.

Клетки мелкие, палочковидные, иногда искривленные, собранные в розетки. Дочерние клетки овальные, иногда искривленные, подвижные, образуются на наружных концах радиально расположенных клеток розеток путем деления; миксотрофный организм; автотрофный рост происходит за счет окисления  $CO$  и (или)  $H_2$  кислородом с фиксацией  $CO_2$  на рибулезодифосфате. В жидкой

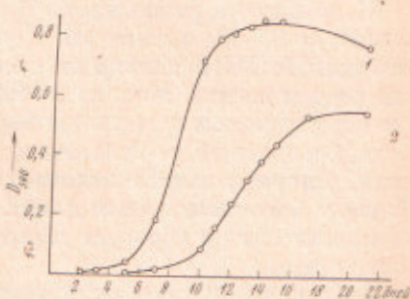


Рис. 2. Кривые роста Z-1062. 1 — в атмосфере 75%  $H_2 + 15\% O_2 + 10\% CO_2$ ; 2 — в атмосфере 80%  $CO + 20\% O_2$



среде рост в виде мути с мелкими хлопьями — агрегатами розеток; на агаризованной — угнетенный рост в виде мелких росинчатых колоний. Гетеротрофно растет как типично олиготрофный организм. В качестве единственного источника углерода использует органические кислоты, лучше всего янтарную и молочную; в этом случае растет в виде белой взползающей по стенкам пробирки пленки (как *Bacillus hydrogenes* Лебедева). Углеводы и аминокислоты не использует. Весьма слабый рост на агаризованных средах.

Желатину не разжижает. На МПА и картофельном агаре образует мелкие, до 0,5 мм диаметром, круглые, бесцветные, прозрачные, блестящие колонии. На МПБ кольцо на стенках пробирки, помутнение среды и слабый осадок на дне. Молоко не коагулирует. Недельный рост на скошенном картофельном агаре в пробирках: слабый, расстилающийся по поверхности, бесцветный до беловатого, прозрачный, напоминающий капли жидкости. Нитраты восстанавливает до нитритов. На кусочках картофеля образует бело-желтоватый налет. На кусочках моркови роста нет. На картофельном отваре образует пленку на поверхности и равномерную мусть в толще среды.

Контролем чистоты культуры служит высеv на агаризованные среды, например картофельный агар; в чистой культуре в течение недели не обнаруживается иного роста на этой среде, кроме микроскопических росинчатых колоний. Газовая атмосфера, содержащая CO, совершенно не является гарантией против загрязнения посторонней микрофлорой.

Применение водородных бактерий как вероятных источников микробного белка, получаемого на непищевом сырье, заставляет искать возможности применения дешевого водорода. Водородные бактерии весьма чувствительны к примеси CO, а дешевый водород, всегда загрязненный CO, получают конверсией природного газа, нефтяных остатков, дешевого угля с последующей очисткой от окиси углерода многоступенчатой конверсией с водяным паром<sup>(11)</sup>.

Практическая ценность культуры *Seliberia carboxydohydrogena* заключается в ее способности расти в атмосфере кислорода и угарного газа или водорода, что допускает применение неочищенного водорода или прямо водяного газа, хотя урожай и скорость роста исходного штамма пока не высоки. Возможно также применение организма для очистки промышленных газов.

Институт микробиологии  
Академии наук СССР  
Москва

Поступило  
14 IV 1970

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> M. W. Beijerinck, A van Delden, *Centr. Bakt. Parasitenk.*, 2, 40, 33 (1903).  
<sup>2</sup> A. Kistner, *Proc. Kon. Ned. Acad.*, 56, 443 (1953). <sup>3</sup> A. Kistner, *Proc. Kon. Ned. Acad.*, 57, 186 (1954). <sup>4</sup> P. Hirsch, *Bact. Proc.*, 90 (1965). <sup>5</sup> P. Hirsch, *Nature*, 217, 555 (1968). <sup>6</sup> Э. У. Саяжиева, *Микробиология*, 39, в. 5 (1970). <sup>7</sup> Н. Д. Савельева, Т. Н. Жилина, *Микробиология*, 37, 84 (1968). <sup>8</sup> Б. В. Громов, *Вестн. Ленингр. унив.*, 15, 139 (1967). <sup>9</sup> Т. В. Аристовская, *Микробиология подзолистых почв*, «Наука», 1965. <sup>10</sup> J. De Ley, M. Bernaerts et al., *J. Gen. Microbiol.*, 43, 7 (1966). <sup>11</sup> В. В. Иоффе, *Основы производства водорода*, Л., 1960.