

Г. Е. МАРКОСЯН

**НОВАЯ МИКСОТРОФНАЯ ТИОНОВАЯ БАКТЕРИЯ
РАЗВИВАЮЩАЯСЯ В КИСЛОЙ СРЕДЕ THIOPARUS
ORGANOPARUS SP. N.**

(Представлено академиком А. А. Имшенецким 26 II 1973)

Микрофлора месторождений полезных ископаемых еще не достаточно изучена. Наряду с микроорганизмами, считавшимися основными обитателями сульфидных руд, обнаруживаются новые физиологические формы и их спутники (^{1, 3, 6-10}). Изучение видового состава микрофлоры сульфидных месторождений и обнаружение новых физиологических форм тионовых бактерий представляет большой интерес в связи с выявлением природы микробиологического окисления сульфидных руд (²).

При исследовании месторождений меди АрмССР нами выделена новая бактерия, существенно отличающаяся от до сих пор описанных представителей тионовых бактерий. Она развивается в крайне кислых условиях и способна без предварительной адаптации полностью переключаться с автотрофного обмена на гетеротрофный и наоборот. Организм обнаруживается в кислых рудничных водах и окисленных породах сульфидных месторождений, широко представлен в рудных полях Кафанского, Алавердского, Шамдугского, Ахталского месторождений в Армении и Дегтарского рудника на Урале.

Типовой штамм описываемого микроорганизма выделен из рудничной воды Алавердского месторождения на среде Летена при замене железа глюкозой (состав среды, г/л: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,15, KCl 0,05, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5, KH_2PO_4 0,1, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0,01, глюкоза 5,0—10,0, pH 3,0). Чистая культура организма была получена на силикагеле, пропитанном глюкозо-минеральной средой, при пересевах колоний в жидкую среду Ваксмана с элементарной серой.

Описываемая бактерия представляет собой короткие палочки с закругленными концами размером $0,5-0,8 \times 1,0-1,6$ м (рис. 1 а, в). Спор не образует. Подвижные, молодые клетки имеют один-два субтерминальных жгутика (рис. 1б). Окрашивается по Граму отрицательно. Колонии на глюкозном силикагеле мелкие, приподнятые, с округленными краями, бесцветные, имеют гладкую поверхность (рис. 1г). В жидких средах рост диффузный с равномерным помутнением среды.

Выделенная бактерия развивается в кислых условиях в пределах начального значения pH среды 1,5—4,8, с оптимальным pH 2,5—3,0. Выше исходного значения pH 5,0 и ниже 1,5 рост организма отсутствует как на минеральной среде с серой, так и на средах с органическими веществами. Однако при развитии организма на среде Ваксмана с серой значение pH снижается намного больше, при этом культура остается жизнедеятельной.

Кривые автотрофного роста микроорганизма и его способность к окислению элементарной серы на среде Ваксмана с образованием серной кислоты приводятся на рис. 2—4. Как видно из рисунков, после короткой лаг-фазы параллельно с увеличением числа клеток (до $3 \cdot 10^8$ в 1 мл) происходит интенсивное окисление серы. Количество сульфат-ионов

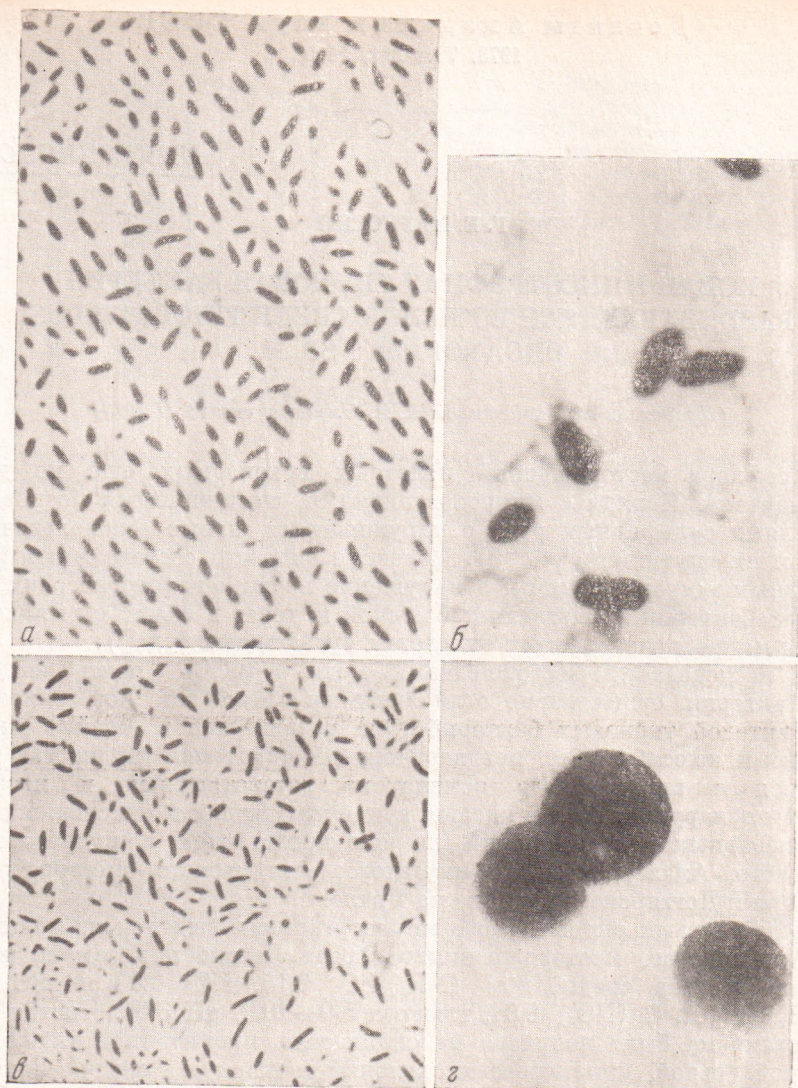


Рис. 1. *T. organoparus*. а — на минеральной среде с глюкозой (2100 $\times$), б — бактерия с окрашенными жгутиками (5400 $\times$), в — на среде Ваксмана с элементарной серой (1800 $\times$), г — колонии на твердой среде с глюкозой (70 $\times$)

в среде при продолжении опыта до 40 дней достигает около 10 г/л с понижением pH 1,1.

В качестве окисляемого субстрата организмом не используется тиосульфат натрия как в кислых, так и в нейтральных и щелочных условиях. Бактерия не растет на тиосульфатном агаре Ваксмана, предназначенном для *T. thiooxidans*, на жидкой среде Старки для *T. novellus*, на жидких и твердых средах Бейеринка для *T. thioparus*, Баалсруда для *T. denitrificans*, Лондона и Риттенберга для *T. intermedius* и *T. perometabolis* добавлением дрожжевого экстракта. Организм не растет также на минеральной среде Летена для *T. ferrooxidans* и на средах Виноградского для нитрифицирующих бактерий⁽²⁾.

Гетеротрофный рост описываемого микроорганизма с обильным урожаем клеток ($> 10^9$ в 1 мл) отмечается в кислых условиях на минеральных средах при добавлении 0,3—1,0% глюкозы, сахарозы, маннита,

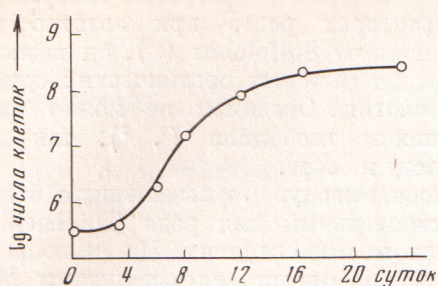


Рис. 2

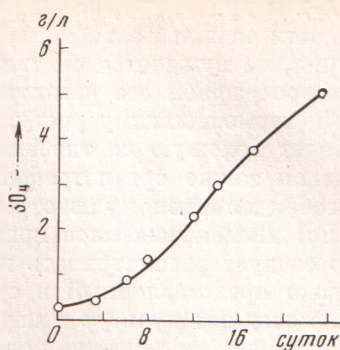


Рис. 3

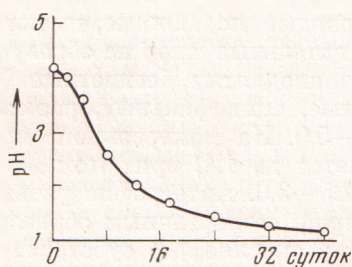


Рис. 4

Рис. 2. Кривая роста *T. organoparus* на среде Ваксмана с элементарной серой

Рис. 3. Окисление серы *T. organoparus* на среде Ваксмана

Рис. 4. Подкисление среды Ваксмана на сере при развитии бактерии

натриевой соли лимонной кислоты, аспарагина, глютаминовой кислоты и гидролизата казеина. Организм не развивается при натриевых солях молочной, уксусной, муравьиной кислот и на этаноле в указанных концентрациях. Добавление дрожжевого экстракта 0,01–0,05% не влияет на рост организма.

Организм не развивается как в кислых, так и в нейтральных условиях на сложных органических средах: МПБ, МПА, пептонной воде, пептонной воде с дрожжевым экстрактом, пептонной воде с лошадиной сывороткой.

Из источников азота бактерия хорошо развивается на сернистой аммонии. Рост отмечается и на мочеvine, нитраты не используются.

Выделенная бактерия нормально растет при температуре 25–30°, около 37–40° рост культуры прекращается, а уже в пределах 45–50° культура погибает.

Таким образом, выделенная нами бактерия по морфо-физиологическим признакам несомненно относится к роду *Thiobacillus*, но отличается от известных видов способностью одинаково хорошо развиваться автотрофно и гетеротрофно при крайне низком значении pH и не нуждается при этом в факторах роста. О возможности существования среди тионовых бактерий вида подобного сочетания признаков было предсказано Заварзиным еще в 1965 г. при рассмотрении систематики тионовых бактерий (⁴, ⁵).

Описываемая бактерия при автотрофном росте на минеральной среде с элементарной серой аналогична известному *T. thiooxidans* (², ⁵, ⁶). В отличие от *T. thiooxidans*, она способна развиваться гетеротрофно и не растет на тиосульфатных средах. Организм несколько отличается от *T. thiooxidans* и по своей морфологии, имея один-два субтерминальных жгутика.

При гетеротрофном росте основное отличие организма от представителей миксотрофных тионовых бактерий *T. intermedius*, *T. perometabolis*,

Т. А-2 и др. (², ⁸⁻¹⁰) заключается в его ацидофильности, а также неспособности использовать в качестве окисляемого субстрата тиосульфат натрия, не нуждается он также и в факторах роста при автотрофном и гетеротрофном его развитии. В отличие от *Sulfolobus* (¹⁰), он неспособен к термофильному росту, не растет на сложных органических средах и имеет похожую на тиабацилл морфологию. Организм не может быть признан также органотрофным спутником тиабацилл (², ³). так как способен к активному автотрофному росту на сере.

Все вышеизложенное приводит нас к выводу, что выделенную бактерию следует рассматривать как самостоятельный вид рода *Thiobacillus*, широко представленный в сульфидных месторождениях. Из имеющихся у нас сходных культур в качестве типовой представляется штамм М-3, выделенный из рудного поля Алавердского месторождения. В качестве видового названия предлагаем *Thiobacillus organoparum* со следующим диагнозом.

Клетки имеют форму короткой палочки с округленными концами, размером $0,5-0,8 \times 1,0-1,6$ м. Клетки молодые подвижные, имеют один-два субтерминальных жгутика. Грамотрицательные спор не образуют. Колонии на глюкозном силикагеле мелкие, приподнятые, бесцветные. Рост на жидких средах диффузный. Миксотрофные, ацидофильные, развиваются в кислых условиях с исходным рН 1,5—5,0. На минеральной среде с элементарной серой значение рН снижается до 1,1, при этом культура остается жизнеспособной. Оптимум рН 2,5—3,0. Автотрофно развивается на минеральной среде с элементарной серой, с энергичным образованием серной кислоты. Не использует в качестве окисляемого субстрата соединения закисного железа и азота. Гетеротрофно развивается на глюкозе, сахарозе, манните, на натриевой соли лимонной кислоты и на аминокислотах. Не развивается на сложных органических соединениях. Не нуждается в факторе роста при автотрофном и гетеротрофном ее развитии. Аэроб, мезофил с оптимумом 27—30°. Организм обнаруживается в кислых рудничных водах и окисленных рудах сульфидных месторождений.

Институт микробиологии
Академии наук АрмССР
Ереван

Поступило
26 II 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. Н. Ляликова, ДАН, 176, 1432 (1967). ² Г. И. Каравайко, С. И. Кузнецов, А. И. Голомзик, Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд, «Наука», 1972. ³ Г. А. Заварзин, Микробиология, 46, 369 (1972). ⁴ Г. А. Заварзин, Изв. АН СССР, сер. биол., № 2, 287 (1965). ⁵ Г. А. Заварзин, Литотрофные микроорганизмы, «Наука», 1972. ⁶ Г. А. Соколова, Г. И. Каравайко, Физиология и геохимическая деятельность тионовых бактерий, «Наука», 1964. ⁷ Г. Е. Маркосян, Биол. журн. Армении, АН АрмССР, 25, № 2, 26 (1972). ⁸ J. London, Arch. Mikrobiol., 46, 329 (1963). ⁹ J. London, S. C. Ritenberg, Arch. Mikrobiol., 59, 218 (1967). ¹⁰ B. F. Taylor, D. S. Hoare, J. Bacteriol., 100, № 1, 487 (1969). ¹¹ T. D. Brock, K. M. Brock, Arch. Mikrobiol., 84, 54 (1972).