

УДК 576.809.5

МИКРОБИОЛОГИЯ

Л. А. ЕГОРОВА, И. Н. ПОЗМОГОВА, Л. Г. ЛОГИНОВА

ЭКСТРЕМАЛЬНО-ТЕРМОФИЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ ГОРЯЧИХ ИСТОЧНИКОВ КАМЧАТКИ

(Представлено академиком А. А. Имшенецким 16 V 1973)

В августе — сентябре 1972 г. Институтом микробиологии АН СССР была организована экспедиция в районы горячих источников Камчатки с целью выделения из природы экстремально-термофильных бактерий, способных развиваться при температурах выше 70°. Пробы обрастваний были отобраны в местах выходов на поверхность горячих источников следующих мест Камчатки: Начики, Малки, Нижняя Паратунка, Эссо, Кроноцкий заповедник, кальдера вулкана Узон и Долина Гейзеров. Большинство проб было отобрано в тех местах, где температура воды горячих источников достигала 70—93°. Величина pH указанных проб колебалась в пределах 6,3—7,3.

Из отобранных проб проводили высеевы на агаризованные среды следующего состава: мясо-пептонный бульон, разбавленный в 5 раз, с добавлением 0,1% дрожжевого экстракта и 4% агар-агара и минеральную синтетическую среду⁽¹⁾ с 1 об. % этилового спирта. Чтобы предупредить возможность испарения спирта при столь высокой температуре, как 75°, пробирки герметически закрывали. В связи с тем, что выделение проводилось при экстремальной температуре 75°, в среды добавляли 4% агара и помещали пробирки в термостат в горизонтальном положении. Для создания определенной влажности, с целью предохранения агаризованных сред в чашках Петри от высушивания, в термостат помещали химические стаканы с водой. Длительность выдерживания чашек Петри с агаризованными средами и высевянными на них пробами составляла 10—18 час. Колонии, выросшие на чашках, затем пересевали на скопенный картофельно-пептонный агар (к.п.а.), рекомендованный для культивирования облигатно-термофильных бацилл⁽²⁾. Картофельно-пептонный агар имел следующий состав: 20% картофельный отвар, 0,5% пептона, 0,1% мела и 4% агара.

Из 7 проб (всего было отобрано 19 проб) было выделено 9 чистых культур экстремально-термофильных бактерий, семь из которых были выделены на мясо-пептонном бульоне, разбавленном в 5 раз, с добавлением 0,1% дрожжевого экстракта и 4% агара и две культуры — на синтетической среде с 1 об. % этилового спирта, также с 4% агара. Температура горячих источников районов Начики, Малки, Эссо и Долины Гейзеров, где были обнаружены эти бактерии, равна или близка к 70°, а pH воды нейтральный или слабо щелочной.

Ниже приводим характеристику указанной группы бактерий. Все девять культур экстремально-термофильных бактерий представляют собой палочки с округлыми концами. Длина палочек составляет 2—6 μ , диаметр их равен 0,6—0,7 μ (рис. 1а). Иногда в культурах экстремально-термофильных бактерий можно наблюдать образование длинных нитей. Длинные цепочки бактериальных клеток образуются в начале и в середине стационарной фазы роста культуры, т. е. 7- и 9-часового возраста (рис. 1б). В культурах же большего, 16-, 24-часового возраста длинные нитеобразные клетки экстремально-термофильных бактерий не фрагментированы (рис. 1в).

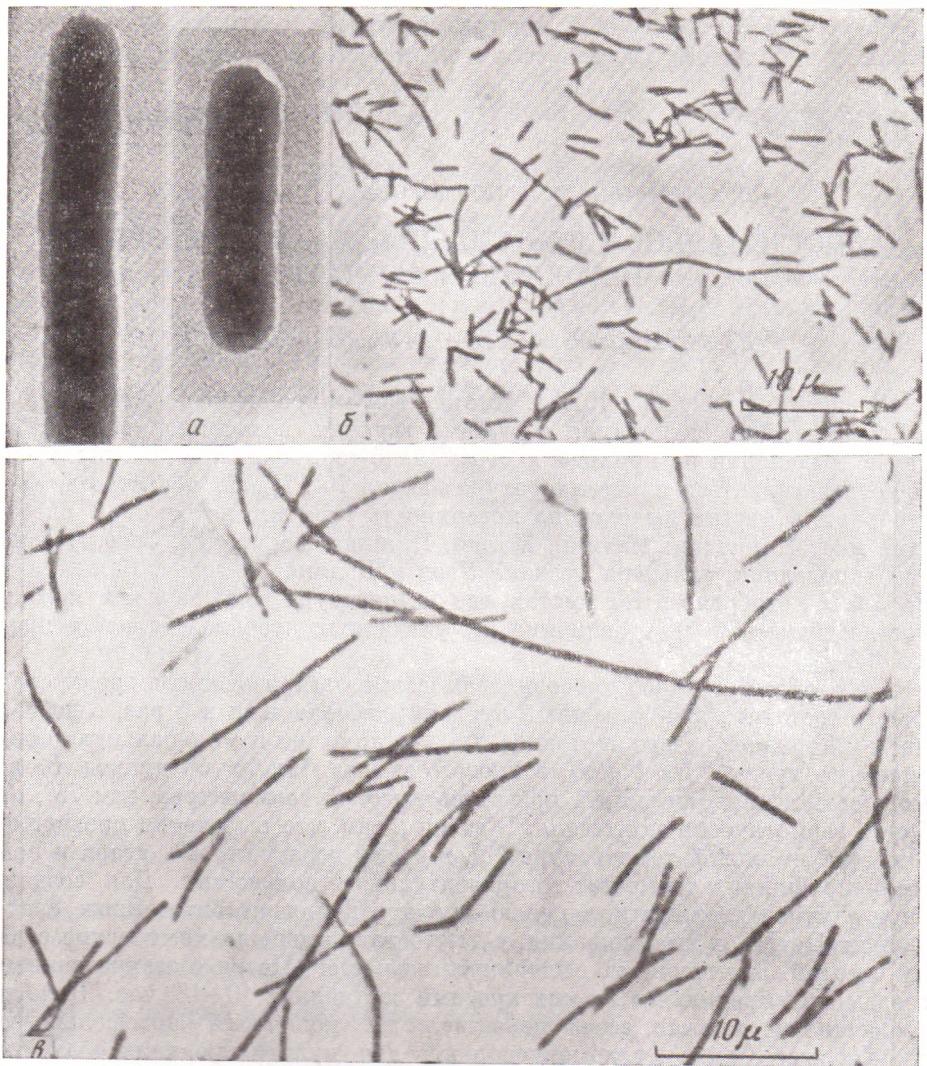


Рис. 1. Морфология клеток экстремально-термофильных бактерий. *а* — штамм 45. Клетки из культуры, выросшей на картофельно-пептонном агаре при 75°. Возраст 16 час., 16 000×. *б*, *в* — штамм 71. Клетки из жидкой картофельной среды с 0,5% пептона и 0,1% дрожжевого экстракта. Рост на качалках, делающих 270 об/мин.: *б* — рост при 70° в течение 9 час., 1600×; *в* — 16 час., 2100×

Это неподвижные, грамотрицательные, не образующие спор и не имеющие жгутиков бактерии. Колонии на картофельно-пептонном агаре желто-оранжевые, как у штамма 71, или желтоватые, как у остальных восьми штаммов (42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 70), круглые, блестящие, компактные, гладкие с слегка приподнятым центром и ровным краем.

Характер роста на склоненном картофельно-пептонном агаре в пробирках: желто-оранжевый или желтоватый прозрачный гладкий налет. Характер роста в жидкой картофельно-пептонной среде: рост в виде тонкого кольца и слабой мути у поверхности среды при выращивании экстремально-термофильных бактерий в тонком слое среды и в стационарной культуре. На ломтиках картофеля роста нет. Потребность в питании была изучена у всех девяти выделенных культур экстремально-термофильных бактерий. Указанные микроорганизмы хорошо растут в синтетической среде с ксилозой, ацетатом, цитратом, сукцинатом; в качестве источника

азота хорошо используют глутамат. Значительно слабее был рост на среде с глюкозой или сахарозой. Не было роста на среде с нитратом в качестве источника азота. Особенно хороший рост экстремально-термофильных бактерий отмечен на картофельной среде с пептоном и дрожжевым экстрактом. Оптимальный pH среды для культивирования бактерий 7,0–7,5; нет роста при pH ниже 6,6 и выше 9,0. Крахмал не гидролизуют. Желатину не разжижают. Молоко не свертывают и не пептонизируют. Индол и ацетоин не образуют.

Все девять культур экстремально-термофильных бактерий восстанавливают нитраты до нитритов. Не образуют NH_3 и H_2S . Отношение к кислороду: облигатные аэробы. Указанные культуры по своим кардинальным температурам роста незначительно различаются между собой. Минимальная температура роста этих культур на среде к.п.а. 40–42°, оптимальная 70–76° и максимальная 80° (рис. 2).

Чтобы убедиться в том, что выделенные нами экстремально-термофильные бактерии хорошо растут при столь высокой температуре, как 75°, чистые культуры этих микроорганизмов пересевали при указанной температуре ежедневно в течение 1 мес. В дальнейшем пересев указанных бактерий производился через каждые 15 дней.

В настоящее время описаны 2 вида экстремально-термофильных бактерий нового рода *Thermus aquaticus*, УТ-1⁽⁵⁾ и *Thermus flavus*, АТ-62⁽⁸⁾. Одним из характерных признаков бактерий того и другого вида *Thermus* является способность к образованию желто-оранжевого внутриклеточного пигмента каротиноидной природы⁽⁹⁾. Кроме указанных видов имеется описание беспигментного штамма экстремально-термофильных бактерий, отнесенных к роду *Thermus*, но не имеющих видового названия^(7, 9).

В последние годы из горячих источников Японии были выделены экстремально-термофильные бактерии, которые были отнесены к роду *Flavobacterium* и названы *Flavobacterium thermophilum*, НВ-8⁽¹⁰⁾. Эти бактерии имеют некоторые отличия от бактерий видов *Thermus aquaticus* и *Thermus flavus*⁽⁸⁾.

Выделенные нами экстремально-термофильные бактерии по своим морфологическим, культуральным и физиолого-биохимическим признакам имеют сходство с видом *Thermus flavus* и отличаются от бактерий этого вида способностью восстанавливать нитраты. Этот признак является характерным для бактерий вида *Thermus aquaticus*.

Необходимо отметить, что С. И. Кузнедов⁽¹⁾ наблюдал нитеобразные микроорганизмы в термальных источниках Камчатки с температурой воды до 95°. Однако указанные бактерии им не были выделены. В Советском Союзе нам впервые удалось выделить неспорообразующие экстремально-термофильные бактерии, способные развиваться при температурах выше 70°.

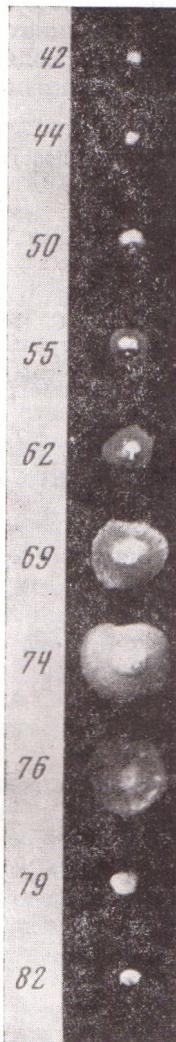


Рис. 2. Гигантские колонии экстремально-термофильной культуры, штамм 71, на картофельно-пептонном агаре при разных температурах. 15 час. роста. Цифры — температура в °С

Обнаружение экстремально-термофильных бактерий рода *Thermus* в горячих источниках Камчатки, расположенных друг от друга на большом расстоянии, позволяет сделать вывод о широком распространении указанных микроорганизмов в гидротермах с нейтральным или слабощелочным pH.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
16 V 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ С. И. Кузнецов, Тр. Инст. микробиол. АН СССР, в. 4, 130 (1955). ² Л. Г. Логинова, Р. С. Головачева, Л. А. Егорова, Жизнь микроорганизмов при высоких температурах, «Наука», 1966. ³ T. D. Brock, Principles of Microbiol. Ecology, N. Y., 1966. ⁴ T. D. Brock, Nature, 214, 882 (1967). ⁵ T. D. Brock, N. Freeze, J. Bacteriol., 98, 1, 289 (1969). ⁶ R. W. Castenholz, Nature, 215, 1285 (1967). ⁷ T. J. Jackson, R. F. Ramaley, W. G. Meinschein, Arch. Mikrobiol., 88, 2, 127 (1973). ⁸ T. Saiki, R. Kimura, K. Arima, Agr. Biol. Chem., 36, 13, 2357 (1972). ⁹ R. F. Ramaley, J. Hixson, J. Bacteriol., 103, 2, 527 (1970). ¹⁰ F. Yoshizaki, T. Oshima, K. Imahore, J. Biochem., 69, № 6, 1083 (1971).