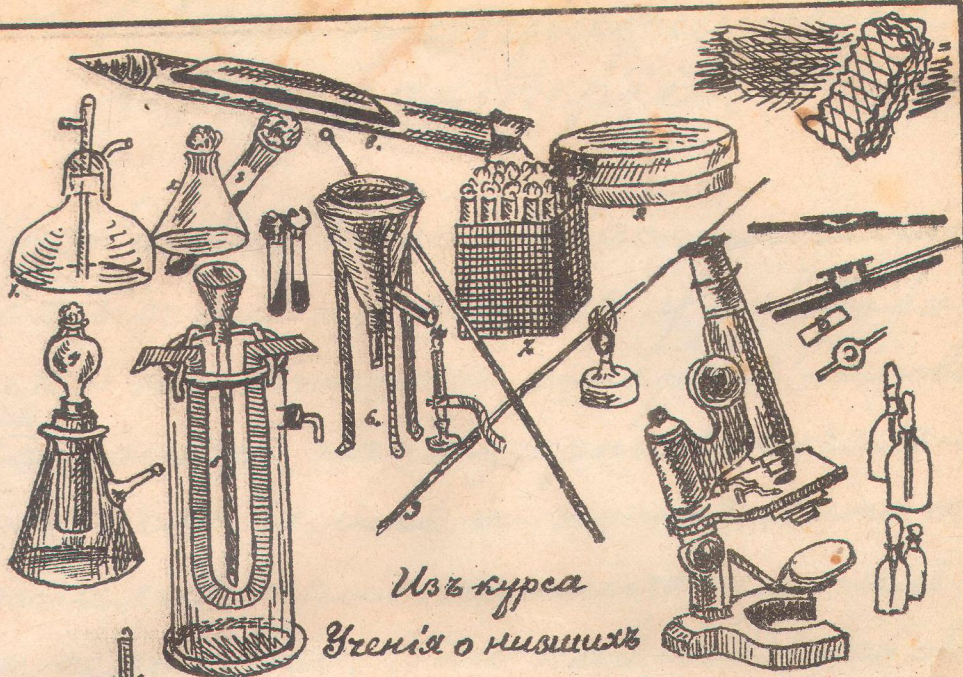




Изъ курса
Ученія о низшихъ
организмахъ,

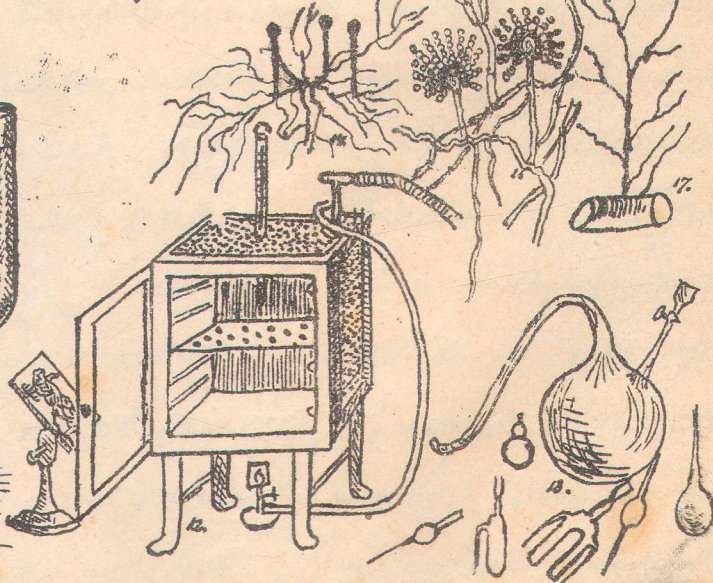
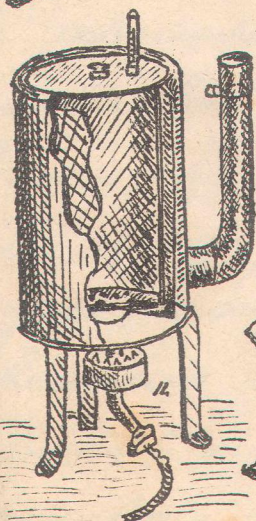
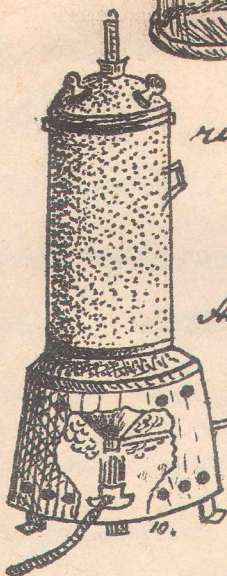
читаннаго въ Н. А. У.

С. Х. и Л.

въ
1894-1895 г.

Ад. проф. Е. Ф. Вотчалом.

Частная морфологія
и физиологія бродильныхъ
организмовъ.



[Faint, illegible text, likely bleed-through from the reverse side of the page.]

Жизнь нитрифицирующей бактерий.

Уже давно были известны случаи, когда погни на глазах у наблюдателя, — на стенах старых домов ^{мусорных} и конюшен, на мусорных кучах и прог. появлялись и постепенно нарастали приставоческие налеты селитры. Это наблюдалось обыкновенно в соседстве с почвою, пропитанною влагой, сильно загрязненной нечистотами. Практика очень рано обратила внимание на эти факты. Еще прежде того значение селитры было признано сельскими хозяевами, она ценилась, как материал для приготовления пороха. Ее выщелачивали из мусора старых строений и прог. Вмѣстѣ съ тѣмъ давно уже, подражая условіямъ ея естественнаго появленія, старались создавать и искусственные очаги ея образования. Такъ возникла чуждая

А. С. П. Котляков

отрасль промышленности. Из на-
воза, переложенного хворостом и
посыпанного золою или другими
целочными и известковыми осад-
ками, устраивали такъ называ-
емые селитряницы или селитря-
ные копоты^(*). Стремясь полу-
чить возможно большее количе-
ство продукта, практика выработала
ряд систем таких селитряных
заводов. Въ 1777 году французское
правительство издало „наставле-
ние къ устройству селитрян^и“.
В немъ тщательно сводились дан-
ные практики и давались черте-
жи и описаніе наиболее выгоднаго
типа селитряницы. Это былъ об-
ширный крытый сарай со стѣна-
ми изъ плетня. Внутренность его
была занята пирамидальною кучей
изъ переложеннаго хворостомъ и ба-
ками (ради пористости) навоза,
смѣшаннаго съ землею, золою (из-
вестною. Сверху по желобу на кучу

(*) Такие селитряницы устраиваются, нап^р
въ ~~то~~ восточной черноземной Россіи, гдѣ навозъ
не идетъ на удобрение.

стекла навозная окисна или мо-
ча.⁽¹⁾ Вода через два часа выщела-
чивалась водой. Переходившая
въ раствор азотнокислая соль
(преимущественно известковая
и магнезальная) превращалась, по-
сле обработки K_2CO_3 , въ калийную
селитру, которая затвердевает и вы-
кристализовывалась. Это завод-
ское производство крайне интересно
по типу наблюдений, которые
оно накопило. Строго говоря оно
собрало первые экспериментальные
данные относительно условий об-
разования селитры. Ниже мы бу-
дем вкратце изложить случаи наблю-
дений въ ~~этой~~ чистоте ^{этих наблюдений}.

Сам въ извѣстных климатах
видимое накопление селитры по-
являлось только въ вышеуказан-
ных сравнительно исключитель-
ных случаях, то въ теплых и
жарких странах, въ Индіи, Егип-

(1) Обычно селитрянницы - гораздо проще: имъ
устройства въ видѣ куръ, прикрытых отъ
дождя. Для усилія доступа воздуха имъ
часто перекапываютъ.

ты, Перу и также и Чили, се-
листру давно уже выщелачивается
прямо из почвы. Последний, после
дождей, сильно смывается знойными днями,
частью покрывается тем же налётом,
состоящим из главных образцов из
кристаллов селитры. Она выпадает
из сгустившихся через
испарение почвенных растворов.

Наконец в странах с таким
же тёплым климатом, (в Чи-
ли, Перу, а (совсем недавно) в Кап-
ской земле (Южная Африка)) известны и
массивные отложения целочных
азотнокислых солей.

Однако образование селитры око-
ро пришлось признать обшир-
но распространённым, а не ограниче-
нным только тем указанным
исключительными обстоятельства-
ми. Анализ почвы показал,
что главная масса из азотис-
веществ отнесётся на долю азот-
истых органических веществ,
перенос и растительных остат-
ков. Количество же азотнокис-

лених сапей, столь важныя для ти-
таниа зеленаго растенія, — крайне
нужно. Обычно оно выражается
въ сотнях долей гр^м. на кило-
граммъ почвы. Еще более незна-
чительно количество аммиака.^(x)

Съ другой стороны анализъ дренаж-
ныхъ водъ показываетъ, что послед-
нія вымываютъ нитраты изъ
почвы.^(xx) Удерживая, благодаря
своей положительной способ-
ности, аммиакъ, — почва не въ со-
стоянии задержать азотнокис-
лые соли. Такимъ образомъ
нитраты, и безъ того скудные
въ нашихъ почвахъ, каждаго
дождя вымываются изъ нихъ.
Суммируя, количества селитры,
выносимой килограммъ въ рѣки, а
последними въ моря, дають гро-
мадные цифры, выражающыя въ сот-

(x) Вотъ для примѣра одинъ анализъ почвы въ
Нанси (Франція):

въ 1 клг. найдено азота растит. остатковъ 1,432 гр.

„ азотнокислыхъ солей 0,04 „

„ аммиака — — — 0,008 „

(xx) Содержаніе N_2O_5 въ почвѣ. Воды дренажа и т.д. 2 pro
mille (т. е., 2 на тысячу).

ных и тысячах килогр. в сутки
для сколько нибудь значительной
ролки.^(x) Вместе с тем, отнима-
ют селитру из почвы и травы.^(xx)
Однако, не смотря на то, нитраты
все-же не исчезают из нее. Наобо-
рот, иногда они даже скопляют-
ся в ней. Очевидно должен существовать в природе меха-
низм, постоянно возобновляющий
их запасы. И механизм этот
должен работать очень энергично.

И давно уже научная мысль, осно-
вываясь на загадочных процес-
сах, происходящих в селитра-
ницах. Для обычных нитратов, она
подыскивала к ним аналоги сре-
ди известнейших уже фактов.

Уже давно были известны старин-
ный опыт Курмана: ток воздуха
с аммиаком, направленный

(x) Нитраты уносятся в море в сутки более миллиона
килогр. селитры. Сена во время мелководья выно-
сится в 24ч. 71,000 пд., а в среднем воду 238,000 пд.
селитры и т. д.

(xx) Для образования 100 гр. сухого вещества ^(замена) фактически необо-
димо помешать в крупицы извести 1 гр. селитры/кель

на кубатую платину, доводитъ
её до накаливанія, приливъ NH_3 со-
решетъ въ азотную кислоту и воду.

Дальше Яюма показавъ, что такое
же нахоженіе селитры происходитъ
и въ мѣду, если, смочивъ его расф-
воромъ KNO_3 , пропустить надъ нимъ
при температурѣ около 100° токъ
воздуха съ примесью NH_3 .

Позднѣе нами (Martigny), что
тоже самое происходитъ и при
обыкновенной температурѣ. На-
концѣ констатировали, что мѣдъ,
лежащій лежащимъ надъ мѣдью
и выделяющей NH_3 кровью, — мало-
по-малу превращается въ селитру.
Казалось, было такое основаніе
видѣть въ этихъ фактахъ ана-
логъ явленій, наблюдавшихся въ
селитряницахъ. Значеніе порисфо-
тии — темнота отливѣла дав-
но; и общепринятое мнѣніе при-
знавало, что аммиакъ, поселив-
ся въ воздухъ надъ разлагающимися
въ селитряницахъ органически-
ми веществами, сгущался и окис-

лялся на поверхности пористых
отвалов и курь, перемешанных с во-
ротною.

Были однако и друія теории: ду-
мали, что при медленном, горюмъ
(горюмъ)
(органических) веществъ навоза,
„увлекается“ и окисляется элемен-
тарный N воздуха. Основанія
для такихъ предположеній дава-
ли наблюденья Шеврёля надъ об-
разованіемъ окисловъ N при горъ-
ніи.

Но все эти соображенія толь-
ко ставили вопросы, не разръ-
шая ихъ; единственнымъ данны-
ми для установленія аналогіи
до сихъ поръ были наблюденья с
аитироваровъ.

Научная разработка вопроса о
механизмъ образованія аммоні-
и, какъ стали говорить, — „ни-
трификаціи“, — началась только
съ работъ Буссенго (1860-1871г). Онъ

(X) Аммоніи сами называются ина-
че нитратами. Отсюда названіе процесса
— нитрификаціи. Соли ^{азотной} азотной кислоты
носятъ названіе нитратовъ.

- 16 -

первый подвергъ экспериментальной проверкѣ старія теоріи; онъ же первый констатировалъ, какъ мы увидимъ сейчасъ, и фактъ, изъ котораго постепенно развились наши современныя представленія о нитрификации. Въ баллонѣ емкостью въ 100 литровъ въ 1860г. была заложена почва, богатая гумусомъ, сдѣланная въ второе болѣе или менѣе количество песка (ради пористости) и смоченная 14% воды. Въ началѣ опредѣлялось содержаніе азотной кислоты, и общее количество C и связаннаго N . Могло бытъ сдѣлано и черезъ нѣкоторое время опыта, оказалось, что количество азотной кислоты увеличилось, общее же количество связаннаго N въ почву даже нѣсколько убавило. Очевидно о фиксациі элементарнаго N не могло бытъ и рѣчи. Теорія, видѣвшая въ немъ источникъ N селитры, оказалась несостоятельной. Не играла роли при нитри-

фиксации и энергия процессов разложения, „горения“, органических веществ. Параллельный опытъ съ прибавленіемъ хлороглатки не показывалъ усиленія образования нитратовъ, хотя убытокъ Сизъ похвы и была въ немъ почти въ 5 разъ больше. И селитры очевидно могъ имѣть только одно происхождение: изъ азотистыхъ органическихъ веществъ похвы.

Но какъ идетъ этотъ процессъ? Действительно ли основнымъ факторомъ въ немъ является простота, какъ масса старая теорія? Вонзінгаулъ бралъ въ ро-мъ нарисованную тѣла песка, мѣлъ и похву съ накатанною похвой. Онъ сжигивалъ ихъ въ хровомъ и дру-гими азотистыми веществами, употреблявшимися въ се-литровареніи. Оказалось, что только въ похвѣ нитрификация или энергично. Не смотря на мѣлъ простоту, — въ песокъ и въ мѣлу накопленіе селитры или вовсе не про-

исходило или или очень медленно.
Прибавление же почвы оказыва-
ло какое-то малочисленное влияние.
Атакъ, присутствием почвы, какъ
таковой, а не какъ пористаго тѣ-
ла обуславливалась энергія нитри-
фикации. Въ чемъ-же кроется раз-
ница этого специфическаго влиянія
почвы? - На этотъ вопросъ Бус-
сеню не данъ отвѣта.

То десятилетіе, когда онъ рабо-
талъ надъ нитрификаціей, - было
эпохой первыхъ завоеваній бакте-
риологии. И въ 1862г. Пастеръ, по-
раженный участіемъ низшихъ
^{организмовъ въ аэрозе} ~~органическихъ~~ ^{веществъ} ~~процессовъ окисленія~~ ^(исходнаго пункта?)
~~органическихъ~~ ^{органическихъ} веществъ, - указы-
валъ на необходимость пересмо-
трѣть и усеніе о нитрификаціи
съ точки зрѣнія новыхъ фактовъ
и идей, выдвинутыхъ его работами.
Не была чужда и Буссеню мысль,
не объяснится-ли загадочное специ-
фическое влияние почвы на нитри-
фикацію участіемъ „грибковъ“
Пастера, какъ онъ выражался шут-
ливо.

Эта мысль скоро оправдалась.
 В той же лаборатории Буссенго,
 в 1877 г., Schlösing & Müntz, ~~проник~~
 нувшись идеями Пастера, — поны-
 тались проверить эксперимен-
 тально его предположение.

Условия были благоприятны. Инф-
 рканция тесно связана с разру-
 шением органических веществ
 поваре. С этой стороны она дав-
 но уже интересовала гигиенистов
 опыты селитроваров показывая,
 что красная окислительная, вводя в
 повару возгонимы, богатыми орга-
 ническими веществами, выхо-
 дить из нее обезвреженными.
 Азотистые органические веще-
 ства и аммиак сами загнива-
 ются в них нитрированием. В 1877
 по подобному вопросу о наличии
 ных обезврежении сточных вод
^{создалась еще одна комиссия по поводу в 1877}
 заседали в Париже комиссия.
 В ней принимали участие Шле-
 ссиг и Монье. Они снова верну-
 лись к опытам Буссенго о нит-
 рации и поваре и подтвердили ее

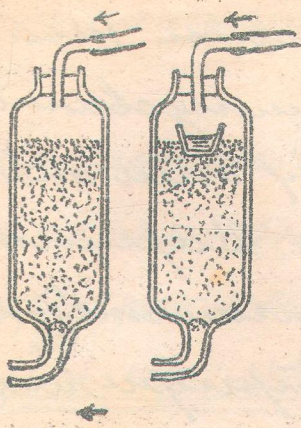
результаты. Вместе с тѣмъ и въ
 Бросилась въ шага одна осознанность
 въ какомъ-то капризномъ характе-
 ре нитрификации въ песокъ. Они
 брали длинную (1 метръ) широко
 стеклянную трубку и, заткнувъ
 мягкой ваткой ее нижнее отвер-
 стіе, наполнили ее прокалённымъ
 пескомъ съ небольшою примесью
 известняка (для нейтрализаціи HNO_3).
 Поставивъ трубку вертикально (см.
 ф. 1, ^{стр. 19}), они пускали черезъ песокъ фовъ
 хлорной кислоты. Последняя
 пропускивалась очень медленно:
 токъ регулировался такъ, что
 полный обливъ кислоты, омыва-
 вшей песокъ, совершался въ те-
 ченіи 8 дней. Въ то же время че-
 резъ песокъ пропускался медленный
 токъ воздуха, такъ какъ давно бы-
 ло известно, что присутствіе
 его необходимо для нитрификаціи.
 Такое время результатовъ было
 то же, что и у Буссена: селитры
 въ стеклавшей кислотѣ
 не было, аммиакъ самъ не появлялся.

Но через 20 дней появились следы азотной кислоты; NH_3 стал убывать, замедляясь все повышавшимся количеством соли. Странно было, будто произошла эффересценция, не смотря на то, что в условиях опыта ничего не подверглось извлечению. Очевидно, в течение времени появлялся и усиливался в нем фактор, способствующий своему присутствию нитрификации. Всего прочее было допустить давно напрашивавшееся предположение об участии микробов. Но для того, чтобы экспериментально проверить эту гипотезу нужно было иметь в руках средство остановить или прекратить деятельность предполагаемого фактора. Остановка нитрификации в этих условиях доказана бы справедливостью гипотезы. Такое средство было уже в руках у названных химиков: оно из них (Монье) уже раньше получено, что хлороформ убивает и

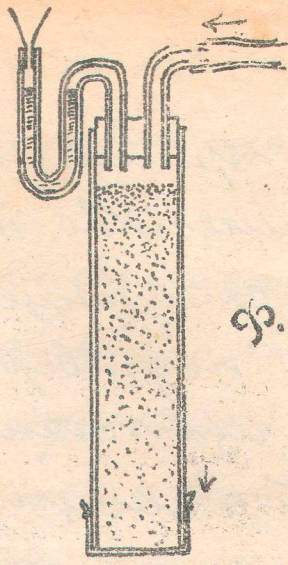
кредовъ. И вотъ, поместивши въ
вернюю часть выше описанной
трубки (ф. 1) гашетку съ этимъ ве-
ществомъ, Шмёминъ и Момъ за-
мѣтили, что вскорѣ селитра сно-
ва стала исчезать изъ стѣжав-
шей пещерности. Черезъ 8 дней оста-
лось только сыръея ея, а на 10-ый
день ея уже вовсе не было. Такимъ
образомъ получили фактическое
подтвержденіе предположенія
о биологическомъ характерѣ нитри-
фикации. Теперь оказалось воз-
можнымъ и посылить минеральную
специфическую нитрифицирующую
способность, которая была кон-
статирована Буссено. Шмё-
минъ и Момъ наполнили 2 ~~литра~~
литра (ф. 2) земли, предвари-
тельно опредѣливъ въ ней содержание
нитратовъ. Въ одномъ аммоніи
надъ полой ставилась гашетка
съ хлороформомъ, и черезъ оба про-
пускался токъ воздуха. Черезъ не-
которое время въ нехлороформиро-
ванной почвѣ содержаніе нитратовъ

повысилось, между тем как внутри
 сущности хлорофора количество
 азота не изменилось. Мы все резуль-
 таты дали и опыты со стерили-
 зацией почвы. Прорастать ей было до-
 вольно трудно. Со этой целью ам-
 мониев с почвой поручился (фв)
 в водную баню, доводящуюся до
 кипения; вместе с тем, через
 него пропускался ток пара, об-
 разовавшаяся в каюте с водой,
 нагреваемой горелкой. После
 того аммониев охлаждался, при-
 чем вентилировал в него воздух
 предварительно стерилизованный,
 проходя через эмалированные накали-
 ваемый лантаном. Через него все
 воздух пропускался (после того
 в течение 2-х месяцев. Оказалось,
 что, хотя такая все почва, нестери-
 лизованная, обнаруживала нитри-
 фикацию, — здесь, после действия
 температуры в 100°C , — содержание
 нитратов в течение 2-х месяцев
 не повысилось. Однако нитрифика-
 ция снова начинается, как только ба-

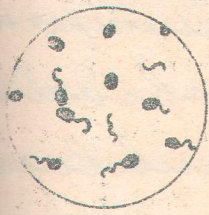
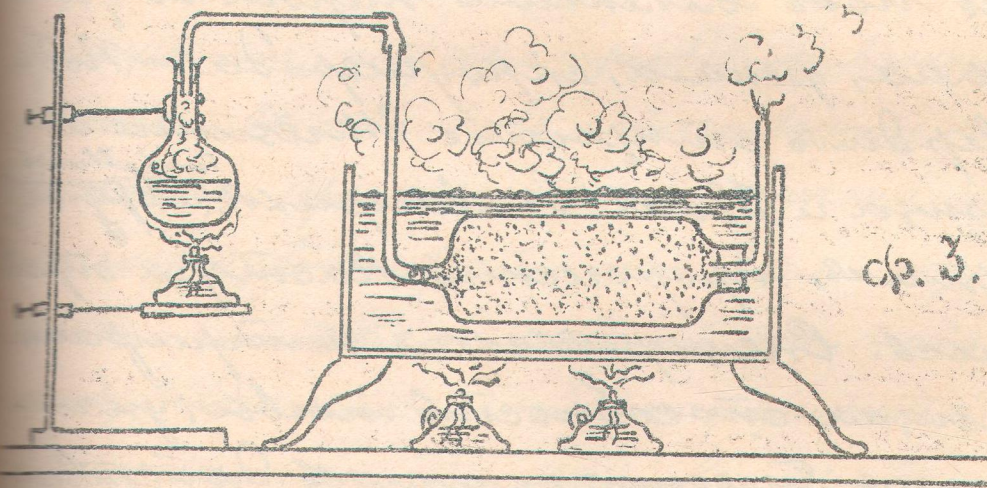
сп. 2



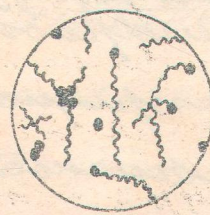
сп. 1.



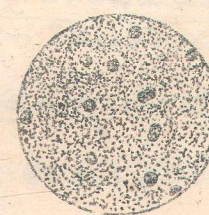
сп. 3.



сп. 4



сп. 5



сп. 6

Увеличение:
(1000:1)



сп. 7



сп. 8

но прибавлено хотя бы небольшое
количество нестерилизованной почвы.
Во ^{следующем} году эти опыты бы-
ли подтверждены Варминтоном
на известной Ротамстедской опы-
тной станции. Нитрификация и во
его опытах почти останавлива-
лась под влиянием паров хлоро-
форма, фенала, сероуглерода. Под-
твердить открытие Мэзума и
Монро и ^{Smith & Munro} Нокс в Америке, (и другие
Итан, пророгство Пастера откры-
лось. Вещирическая нитрифици-
рующая способность почвы, ука-
занная Буссеном, оказалась действи-
тельно обусловленной присутствием
^{нитрифицирующей, которая под действием бактерий}
каких-то микробов, Селитряни-
цы пришлось признать заводским,
вспомогательным пивоварен-
ным и винокурением: и в телях
и в других культивируются и ра-
ботали микробы? (X) Но что это были
за микробы? Вот вопрос, который

(X) Если эти опыты доказывали биологический
характер нитрификации в природе,
то они вовсе не опровергали то случаи

начиная съ 1877 г. вплоть до 1890 г. fubo,
но тщетно интересовалъ не одного изъ совре-
ственниковъ.

Правда изъ опытовъ Милерика и
Монша несомненно слѣдовало, что
микроорганизмы нитрификации не
плѣсени и не млекодеревы, а бактерии.
образования азотной кислоты при горении
(Шеврёль) и на счетъ NH_3 , получаемого изъ воз-
духа (Дитмар), которые прежде привлекались
въ качествѣ аналоговъ естественной нитри-
фикации. Процессы эти несомненно идутъ;
мы скоро увидимъ, что они были прито-
ной причиной заблуждений при попыт-
кахъ выделения „азотнаго фермента“. Глав-
но энергія изъ нитрона въ сравнении
съ энергіей нитрификации под-
вержена микробовъ.

2) Еще старинныя замѣчанія
практиковъ считали покровы
симптомъ нѣсколько крайне
неблагоприятнымъ для образова-
нія селитры. Schläging подтвер-
дилъ это и показавъ, что по-
своему грубымъ предметомъ селитры.

Но этого было мало. Въ почве живёт масса бактерий. Необходимо было выдвинуть микроба играющего активную роль въ нитрификацию и доказать что въ искусственных культурах ему присуща способность вырабатывать нитру съ такой отеченной энергией, которая можетъ быть сравнима съ энергией естественной нитрификации.

Правда уже скоро Милзми и Монье заявили, что имъ удалось выполнить эту задачу. Въ ряду последовательныхъ искусственныхъ культуръ имъ „азотная ферментъ“ нитрификация имъ

интенсивно. Но имъ „*Bacillus nitrificans*“ не имъ опредѣленныхъ морфологическихъ признаковъ; физиологическихъ не даны, полученныхъ съ его культурами не имъ уша впередъ сравнительно со свѣдѣніями, добытыми практикой и работами Буссено. Очевидно тѣ „блестящая тѣлоца“, которая описывалась этими микробами въ ка-

чество азотного фермента, были
простой негустой культурой раз-
личных почвенных микробов.
- Если вышеуказанным способом
не удалось выделить микроба-
ктрификацию, то и бактериоло-
ги более 10 лет безуспешно тру-
дились над той же задачей.

Причины иже неудач на первый
взгляд были странны. Вызвать
в искусственной среде нитри-
фикацию не представляло боль-
шой трудности. Стоило в тифо-
номый раствор⁽¹⁾, содержащий
аммиачные соли внести неболь-
шое количество почвы; и через не-
долго, а иногда и раньше, NH_3 уже
появлялась и ряд разнообразных
микробов развивался в неистощимости.
Зависимость искомого микроба от
такой его сущности^{и от него} (казалось,
тоже и от среды). Методи-
ка измерения бактерий в эту

(1) Шлейхер и Мендель определяют ферментацию простейшей
ферментованной среды воды с прибавлением азот-
ной соли, или растворяют соли азотной в прибавл. орган. вещ., и NH_3
проявляется.

этих, казалось, была уже вполне выражена.
Курьтуры на фламинго, аларь-аларь, бурье-
не назывались в некоторой степени
заслуженной уже извѣстностью по своей
модотворности. Однако совершенно про-
извольное допущение ихъ универсальности,
давно уже указывавшееся многимъ, было
фатальнымъ по отношению къ микро-
бамъ нитрификации. Все, къ чему приво-
дила въ этой области обычная методика,
было крайне неудовлетворительно. Въ
самомъ дѣлѣ, чтобы имѣть основаніе судить
развитія микроба въ предлагаемой ему средѣ,
надо придать ей такіе свойства, которыхъ удово-
лворимось по потребностямъ. Выпалить эту
задачу легко, когда физиологія микроба известна.
Но когда сраживается крайне трудной, когда вѣдь
^{полностью отсутствіе} ~~качественныхъ~~ данныхъ въ этой области имѣются
только намѣки, подмеченные просеивая наблюденія
случайныхъ процессовъ, проходящихъ въ природѣ. Знать
же было безконечно условилось еще и то, что эта
неизвестная физиологія нитрифицирующего фермен-
та оказалась крайне своеобразной. Выясненіе ея
обнаружило факты, совершенно неожиданные. Нитри-
фицирующіе микробы оказались совершенно неспособны
развиваться въ вышеуказанныхъ обычныхъ курьтурныхъ сре-
дахъ. Вотъ почему микроба, мучащаго выважъ сколько-нибудь

жизни! ^{в то время}
нитрификации, (никаму не уда-
валось выделить: одни, какъ Пе-
раус (1886) ^{до какихъ бактерий и до какихъ споръ и} утверждали, что мно-
гие микробы только въ слабой
степени обладают нитрифици-
рующей способностью. Среди по-
свднихъ назывался рядъ общерас-
пространённыхъ сапрофитическихъ
и патогенныхъ ^(иногда пропитыхъ сапрофитическихъ) микробовъ. Другие,
какъ Варингтонъ, въ недоверіи
относился ко всему подобному
данному и говорил, что микробы
нитрификации предстоитъ еще
выделить. Третьи, наконецъ,
вовсе усидились въ биологическомъ
характеръ процесса образования
аммиака. Франк (1887) ^{за что и получилъ Nobel Prize} снова вер-
нулся въ старомъ попыткахъ
объясненія нитрификации чисто
химическимъ путемъ. Необходи-
вались новые усилія (Влатъ (1887) Лан-
голт, Вайтманъ (1887)), чтобы восстано-
вить на этотъ разъ еще болѣе
безспорно справедливостъ откры-
тія Шленма и Мюшаз, и дока-
зать, что однимъ химическимъ про-