

Виноградский С.Н.

**Микробиология почвы:
проблемы и методы**

**Москва
«Книга по Требованию»**

УДК 57
ББК 28
В49

Виноградский С.Н.
В49 Микробиология почвы: проблемы и методы / Виноградский С.Н. – М.: Книга по Требованию, 2013. – 896 с.

ISBN 978-5-458-33000-8

«Микробиология почвы» С. Н. Виноградского представляет собой собрание его избранных работ. Оно состоит из десяти различных по своему объему частей. Первая часть посвящена автотрофам и содержит 5 работ о серо- и железобактериях. Во второй части имеются 3 работы, связанные с изучением морфологии бактерий. Обширная третья часть состоит из 14 исследований по нитрификации. Четвертая часть содержит 4 сообщения по анаэробной фиксации азота. В небольшой пятой части имеется только одна работа по микробной моче льна. Микробиологическим методам исследования почвы посвящена шестая часть, которая содержит 7 работ. В седьмую часть вошли 3 сообщения по аэробному разрушению клетчатки. Большая по объему восьмая часть целиком посвящена исследованиям, связанным с изучением экологии, морфологии и физиологии азотобактера. Два сообщения по симбиотической фиксации азота составляют содержание девятой части. И, наконец, изложение основ экологической микробиологии составляет десятую и последнюю часть книги.

ISBN 978-5-458-33000-8

© Издание на русском языке, оформление
«YOYO Media», 2013

© Издание на русском языке, оцифровка,
«Книга по Требованию», 2013

Эта книга является репринтом оригинала, который мы создали специально для Вас, используя запатентованные технологии производства репринтных книг и печати по требованию.

Сначала мы отсканировали каждую страницу оригинала этой редкой книги на профессиональном оборудовании. Затем с помощью специально разработанных программ мы произвели очистку изображения от пятен, клякс, перегибов и попытались отбелить и выровнять каждую страницу книги. К сожалению, некоторые страницы нельзя вернуть в изначальное состояние, и если их было трудно читать в оригинале, то даже при цифровой реставрации их невозможно улучшить.

Разумеется, автоматизированная программная обработка репринтных книг – не самое лучшее решение для восстановления текста в его первозданном виде, однако, наша цель – вернуть читателю точную копию книги, которой может быть несколько веков.

Поэтому мы предупреждаем о возможных погрешностях восстановленного репринтного издания. В издании могут отсутствовать одна или несколько страниц текста, могут встретиться невыводимые пятна и кляксы, надписи на полях или подчеркивания в тексте, нечитаемые фрагменты текста или загибы страниц. Покупать или не покупать подобные издания – решать Вам, мы же делаем все возможное, чтобы редкие и ценные книги, еще недавно утраченные и несправедливо забытые, вновь стали доступными для всех читателей.

факультет Киевского университета, но вскоре перевелся на естественное отделение физико-математического факультета, на котором пробыл свыше двух лет. Будучи на 3-м курсе, С. Н. Виноградский оставил университет и, увлекаясь музыкой, поступил в Петербургскую консерваторию, в которой занимался по классу фортепьяно у проф. Лешетицкого. Однако занятия музыкой не могли полностью удовлетворить его запросы, и его снова начинает привлекать наука. В ноябре 1877 г. он оставляет консерваторию и поступает на второй курс естественного отделения Петербургского университета. Однако любовь к музыке Сергей Николаевич, будучи сам прекрасным пианистом и виолончелистом, сохраняет на всю жизнь.

В описываемый период состав профессуры в Петербургском университете был исключительным, так как кафедры в нем в 80-х годах прошлого столетия занимал ряд выдающихся русских ученых. Достаточно назвать имена Менделеева, Меншуткина, Бутлерова, Фаминцына, Бекетова и Иностранцева.

В своей подготовке С. Н. Виноградский особенное внимание уделял химии, в частности он прошел обширный практикум по аналитической химии под руководством Меншуткина. В дальнейшем, после окончания университета, работая в лабораториях различных высших учебных заведений, Сергей Николаевич также всегда интересовался химическими аналитическими методами, в частности определением азота в ряде соединений.

В 1881 г. С. Н. Виноградский окончил Петербургский университет, получил диплом, и ему была присуждена ученая степень кандидата. Сразу после окончания университета он был оставлен при университете для подготовки к профессорскому званию. Эта подготовка осуществлялась в лаборатории физиологии растений университета под руководством Фаминцына. Последнему мы обязаны развитием физиологии растений в России, а также тем интересом, который появился в конце прошлого столетия к микробиологии и микологии. В лаборатории Фаминцына С. Н. Виноградский провел свои первые экспериментальные исследования. Им было выяснено влияние внешних условий на морфологические и культуральные особенности *Mycoderma vini*. После выделения культуры из одной клетки этот грибок выращивался в камере для микроскопии, позволявшей следить за изменениями морфологии клеток под влиянием условий культивирования. В камеру добавлялась свежая питательная среда, пропускалась углекислота, вводились питательные среды различного состава и т. д. Повидимому, это был первый случай применения микроскопической камеры для таких исследований. Проведенные опыты установили, что для развития микодермы кальций не нужен, тогда как магний необходим. Было подтверждено, что калий может быть заменен рубидием.

Эти исследования по экспериментальной морфологии микроорганизмов позволили получить ряд интересных данных, большинство которых, однако, не было опубликовано, и имеется только предварительное сообщение о них в трудах Общества естествоиспытателей при Петербургском университете за 1884 г.

Одновременно С. Н. Виноградский готовился к магистерскому экзамену по ботанике, который он выдержал осенью 1884 г. С 1885 по 1888 гг. он работал в Ботанической лаборатории Страсбургского университета, возглавляемой де Бари. Здесь им было проведено изучение морфологии и физиологии серобактерий, а также железобактерий. Эти эксперименты позволили С. Н. Виноградскому установить своеобразие физиологии

железо- и серобактерий, у которых получение энергии связано с окислением неорганических соединений. Далее было показано, что хотя нитчатые бактерии и имеют сложный цикл развития, но взгляды крайнего плеоморфиста Цопфа исследованиями не подтверждаются.

Существенно, что, изучая серо- и железобактерий, С. Н. Виноградский уже тогда применил метод избирательных культур, который получил такое широкое распространение в дальнейшем.

Следующий период жизни Сергея Николаевича связан с его работой в Цюрихе, в котором он пробыл с 1888 по 1891 гг. За этот период он решил необычайно сложный вопрос о нитрификации. Им была не только доказана биологическая природа этого процесса, но и выделены возбудители, окисляющие аммиак до нитритов, а также специальные микробы, окисляющие нитриты до нитратов.

Эти выдающиеся исследования сделали С. Н. Виноградского одним из крупнейших биологов того времени. После появления работ по нитрификации летом 1890 г. к нему в Цюрих приехал И. И. Мечников, который от имени Пастера сделал ему предложение стать заведующим лабораторией в Пастеровском институте в Париже. В 1891 г. С. Н. Виноградский приехал в Париж и посетил Пастера, который снова приглашал его работать у себя. Однако в этот период в России был организован крупный научно-исследовательский центр — Институт экспериментальной медицины в Петербурге. Когда Сергей Николаевич получил предложение возглавить микробиологический отдел этого института, он отказался перейти в Пастеровский институт и предпочел работать в России.

В августе 1891 г. он был утвержден заведующим отделом общей микробиологии Института экспериментальной медицины. Этот отдел просуществовал до 1937 г. Значение работ С. Н. Виноградского было настолько очевидным, что в 1892 г. Совет Харьковского университета присвоил ему степень доктора ботаники без защиты диссертации, а в 1894 г. он был избран членом-корреспондентом Российской Академии Наук.

Работая в Петербурге в Институте экспериментальной медицины, С. Н. Виноградский провел свои классические исследования по анаэробной фиксации азота микробами. В это же время он, совместно с Фрибе-сом, опубликовал сообщение о возбудителе мочки льна. Это был первый организм, выделенный в чистой культуре и обладавший способностью разлагать пектиновые вещества. Очень мало кому известно, что в этот же период С. Н. Виноградский интересовался медицинской микробиологией и эпидемиологией. В частности, им была написана работа «О чумном контакте и новом средстве предупреждения и лечения бубонной чумы». Им проводились также опыты по дезинфекции различных предметов, на поверхности которых находились возбудители чумы. Но исследования такого характера были эпизодическими и в дальнейшем Сергей Николаевич к ним не возвращался.

В 1901 г. Московское общество любителей естествознания, антропологии и этнографии избрало его своим почетным членом, а в 1902 г. Французская Академия Наук избрала его членом-корреспондентом.

Заведя отделом общей микробиологии в Институте экспериментальной медицины, С. Н. Виноградский одновременно был ответственным редактором журнала «Архив биологических наук». В 1902 г. он был назначен директором Института экспериментальной медицины.

Желая объединить русских микробиологов, С. Н. Виноградский в 1903 г. основал Микробиологическое общество, в котором в течение первых двух лет его существования состоял председателем.

Затем в жизни Сергея Николаевича наступает период, в течение которого он почти полностью отстранился от научной работы. Этот период начался с 1912 г., когда он ушел из Института экспериментальной медицины в отставку, и продолжался до 1922 г., когда он стал заведующим Агробактериологическим отделом Пастеровского института в Париже. Этот отдел находится в 30 км от Парижа (в Бри-Конт-Робер) К жилому и лабораторному зданию примыкает участок земли, на котором расположен сад-цветник, что позволяет иметь свежие образцы почвы. В 1921—1922 гг., прежде чем приступить снова к экспериментальным исследованиям, С. Н. Виноградский проанализировал состояние почвенной микробиологии и пришел к выводу, что существующие методы изучения почвенных микроорганизмов не могут удовлетворить микробиолога. Поэтому его первые исследования были посвящены разработке новых микробиологических методов изучения почвы. В дальнейшем им был введен прямой метод микробиологического исследования почвы, проведены обширные исследования по экологии и физиологии азотобактера, интересные исследования по аэробному разложению клетчатки, а также выполнены новые работы по нитрификации.

В 1923 г. С. Н. Виноградский был избран почетным членом Академии наук СССР, называвшейся тогда Российской Академией наук (РАН).

В протоколе заседания Общего собрания от 1 декабря 1923 г. значится следующее:

«Непременный секретарь доложил записку академиков. А. П. Карпинского, В. А. Стеклова, И. П. Бородин, Н. В. Насонова, И. П. Павлова, Н. С. Курнакова, А. Е. Ферсмана, В. Л. Комарова, Д. П. Коновалова, П. П. Сушкина, В. Л. Омелянского и С. П. Костычева об избрании члена-корреспондента русской и французской Академии Наук С. Н. Виноградского почетным членом РАН. Положено:

- 1) записку напечатать в приложении к протоколу,
- 2) произвести баллотирование С. Н. Виноградского в почетные члены РАН в предстоящем экстраординарном заседании ОС¹».

В сравнительно краткой статье, конечно, невозможно проанализировать все творчество С. Н. Виноградского — оно слишком многогранно, и только в будущем его можно будет оценить по-настоящему.

Излагать кратко содержание отдельных частей этого большого тома, как это иногда делается в предисловиях, не имеет смысла. Мы остановимся только на трех больших проблемах, связанных с именем С. Н. Виноградского, и в первую очередь на открытии им хемосинтеза у микробов.

Наблюдая за появлением капель серы в клетках серобактерий, а в дальнейшем за исчезновением этой серы, Виноградский впервые столкнулся с фактами, имеющими непосредственное отношение к хемосинтезу. Для истории микробиологии именно эти исследования представляют огромный интерес, так как несомненно, что появление в клетках серобактерий капель серы исследователи наблюдали и до Виноградского, но никто никогда не связывал этот процесс с энергетикой микроорганизмов. Обычно, когда идет речь о хемосинтезе, в качестве представителей хемосинтетиков указывают нитрифицирующих бактерий. Нельзя не согласиться с тем, что Виноградский с большой тщательностью изучил нитрификацию — это интереснейшее явление в физиологии микробов. Он выделил чистые культуры, установил отношение между окисленным аммиаком и восстановленной углекислотой, произвел сравнительное изучение различных рас

¹ ОС — общее собрание.

нитрифицирующих бактерий и т. д. Однако исследования с нитрифицирующими бактериями и железобактериями явились логическим продолжением его первых работ с серобактериями. Нельзя не указать также, что идея о биологическом окислении аммиака возникла в свое время у Пастера и что в этом вопросе у Виноградского были предшественники, которые, хотя и не выделили чистых культур микроорганизмов, но с несомненностью показали, что это процесс биологический и что в нем имеются две фазы. В противоположность этому установление факта, что серобактерии способны к хемосинтезу, явилось блестящим и совершенно оригинальным открытием. В этом вопросе у С. Н. Виноградского совершенно не было ни предшественников, ни наблюдений, которые могли бы натолкнуть его на это открытие. Только благодаря исключительной наблюдательности выдающегося экспериментатора и большой его одаренности, исчезновение каплей серы из клеток было связано с получением энергии, необходимой для усвоения углекислоты. Здесь лучше всего предоставить слово самому Сергею Николаевичу. В связи с изучением физиологии серобактерии *Veggiatoa* он пишет в своих воспоминаниях следующее:

«.... Прошло 4 семестра, а смысл этих явлений оставался темным, что меня порядочно томило. Не было аналогии, не было идеи, которые могли бы осветить их. Идея эта пришла, как это нередко бывает, совершенно случайно и неожиданно, вне часов работы, на улице, точно кем-то подсказанная. Все собранные наблюдения тогда быстро осмыслились, были скоро готовы и вышли в свет через несколько месяцев».

После появления первых классических работ С. Н. Виноградского по хемосинтезу прошло почти 65 лет. Стройное здание хемосинтеза, покоящееся на гранитном фундаменте — точном эксперименте, сохранилось до настоящего времени. Это не значит, что на протяжении ряда лет не было попыток опровергнуть основные положения Виноградского. Обзор содержания всех работ, критиковавших учение о хемосинтезе, мог бы явиться темой специального исследования. В одних случаях выделялись грязные культуры нитрифицирующих бактерий и, основываясь на работах с ними, доказывалось, что нитрификаторы прекрасно могут существовать как сапрофиты. В других работах выдвигалась идея о том, что в зависимости от состава среды нитрифицирующие бактерии то приобретают, то утрачивают способность к хемосинтезу и, следовательно, хемосинтезики легко превращаются в гетеротрофов и обратно. Были также попытки доказать, что хемосинтез нельзя рассматривать как специальный процесс получения энергии и что аналогичное явление наблюдается у самых различных микроорганизмов. Так неоднократно смешивалось окисление закисных солей железа, дающее энергию для железобактерий, с отложением железа различными нитчатыми и другими бактериями в результате развития этих организмов в среде, содержащей органические соединения железа. Малоубедительными были также исследования, в которых стремились доказать, что нитрифицирующие бактерии, наряду с окислением аммиака, обладают также «обычным» дыхательным процессом и окисляют органические вещества с образованием углекислоты.

На протяжении десятилетий С. Н. Виноградский последовательно возражал против всякой фальсификации идеи хемосинтеза и, благодаря исключительному уменью находить слабые стороны в экспериментальных исследованиях своих оппонентов, вскрывал ошибки в их опытах, которые приводили к неправильным заключениям. Учение С. Н. Виноградского об аноргоксидах (хемосинтезирующих микробах) завоевало всеобщее признание и выдержало испытание временем. Это, конечно, не значит, что

за 65 лет с усовершенствованием микробиологической и биохимической методики не были накоплены новые факты, имеющие непосредственное отношение к этой проблеме и дополняющие это учение.

За эти годы были предложены новые методы выделения культур автотрофных бактерий, изолированы при помощи микроманипулятора чистые культуры нитрифицирующих бактерий из одной клетки, изучено влияние микроэлементов на рост нитрификаторов, предложены методы получения их чистых культур при помощи посевов в толщу кремникового геля и т. д. Однако все это было дополнением, основная же идея хемосинтеза не подверглась никаким изменениям. Сейчас для большинства исследователей стало очевидным, что строгих «классических» автотрофов известно немного. К ним относятся нитрифицирующие бактерии, некоторые железобактерии, тионовокислые бактерии, а возможно и некоторые другие виды. Углубленное изучение физиологии этой группы выяснило, что наряду с хемосинтетиками существует большое количество разнообразных миксотрофных организмов, способных существовать как автотрофы, так и гетеротрофы. Прекрасным примером микроорганизмов с такой физиологией могут служить водородные бактерии, которые, повидимому, благодаря имеющейся у них гидрогеназе способны активировать водород и в присутствии углекислоты существовать автотрофно. В то же время они прекрасно развиваются на обычных питательных средах, применяемых в лабораторной практике. Однако следует подчеркнуть, что существование миксотрофов ни в какой мере не уменьшает значения открытия С. Н. Виноградского и не опровергает существования строгих автотрофов. Значение хемосинтеза не умаляется, конечно, и тем, что очень многие гетеротрофные микроорганизмы оказались способными к усвоению CO_2 . Ассимиляция углекислоты гетеротрофами, установленная впервые русским ученым А. Ф. Лебедевым, представляет большой теоретический интерес, однако никакой аналогии в данном случае с хемосинтезом проводить не приходится.

Исследования С. Н. Виноградского с автотрофными бактериями были произведены еще в прошлом столетии, когда лабораторная техника еще не была на достаточной высоте. Тем более вызывает восхищение точность опытов Виноградского, проведенных им в связи с выяснением коэффициентов, существующих между окисленным азотом и восстановленной углекислотой. Значительно позже эти исследования были повторены Мейергофом с применением более совершенной методики, и последний не только подтвердил основные положения Виноградского, но получил цифры, весьма близкие к тем, которые были получены в опытах нашего выдающегося микробиолога.

Исследования серо- и железобактерий были проведены Виноградским на основе данных экологии этих микроорганизмов. Поэтому естественно, что ученые, исходившие в дальнейшем из этих же предпосылок, подтверждали основные положения, установленные Виноградским.

Это касается прекрасных исследований Н. Г. Холодного по морфологии, систематике и экологии железобактерий. Эти работы получили высокую оценку со стороны Сергея Николаевича, так как они, развивая и дополняя его исследования, дали много нового и ценного.

Учение о хемосинтезе еще в конце прошлого столетия приобрело выдающееся значение не только для микробиологии. Оно привлекло внимание физиологов, химиков, ботаников. Среди теорий, выдвигавшихся различными учеными, нелегко найти другой пример того, как через 65 лет предложенная теория полностью сохранила свое значение. Учение о

хemosинтезе своеобразно и в другом отношении. Ученый, его создавший, имел возможность на протяжении 65 лет следить за развитием своих идей и ежегодно убеждаться в их полной правоте. Это самая большая награда, которую может заслужить исследователь.

Вторая проблема, не потерявшая своего значения и до настоящего времени и также многократно привлекавшая внимание С. Н. Виноградского, связана с изучением морфологии, циклов развития и изменчивости микроорганизмов. Когда Сергей Николаевич начинал свою научную деятельность, были широко распространены взгляды, согласно которым различные виды бактерий представляли собой временное состояние одного и того же вида. Микробиология, развиваясь позже чем микология, переживала те же тревожения, споры и ошибки, которые значительно раньше уже возникали в связи с изучением грибов, имеющих сложную историю развития и образующих различные стадии в своем онтогенезе. Так, по мнению Цопфа, у «высших бактерий», главным образом относящихся к нитчатым, наблюдается та изменчивость, которую В. Л. Омелянский удачно назвал хаотической. Виноградский был первым ученым, который подошел к разрешению этого вопроса не путем изучения окрашенных препаратов, а применив наблюдение за живыми клетками в висячей капле. Изучая жизненный цикл *Cladothrix dichotoma*, С. Н. Виноградский установил, что он имеет определенную историю развития. Далее он нашел, что культуры, принимавшиеся Цопфом за отдельные виды, в действительности состоят из смеси культур различных микроорганизмов, т. е. являются, как тогда говорили, «сборными видами».

Оценка деятельности каждого ученого должна быть правильной в историческом отношении. Бесспорно, что в 80-х годах прошлого столетия инвентаризация малоизвестного мира микробов не могла быть осуществлена без борьбы с плеоморфизмом. Для того времени всякое разнечивание беспредельной изменчивости было прогрессивным, так как оно облегчало задачу поисков новых микроорганизмов, которые так часто открывались в тот период «охотниками за микробами». Здесь нужно подчеркнуть, что Виноградский никогда не был сторонником постоянства видов и что в его статьях читатель найдет ряд высказываний, в которых он критикует позиции мономорфистов.

К морфологическим вопросам Сергей Николаевич вернулся спустя много лет, когда усилиями иностранных ученых была создана фантастическая и имеющая метафизический характер теория циклогении. В связи с необычайно сложной историей развития азотобактера, о которой сообщил Лёнис, С. Н. Виноградский произвел детальное изучение морфологии этого организма и пришел к заключению, что данные Лёниса не обоснованы. Критикуя учение о циклогении, Виноградский справедливо подчеркивал, что оно в значительной степени основано на компиляции ошибочных и не выдерживающих серьезной критики литературных данных, а не на собственном обширном экспериментальном материале. В этом отношении он был совершенно прав, так как монография Лёниса о жизненном цикле бактерий представляет собой обширную сводку цитат, выписок из чужих работ и альбома рисунков, заимствованных из чужих исследований. Собственных наблюдений у Лёниса было очень мало. Учение о циклогении, отрицая развитие микроорганизмов, сводя всю изменчивость к замкнутым циклам развития, к переходам из одной жизненной фазы в другую, чуждо материалистической биологии и оно подверглось всестороннему критическому анализу, который был осуществлен главным образом силами советских микробиологов и был основан на тщательных и об-

ширных экспериментальных исследованиях. Поэтому особенно приятно отметить, что в тот период, когда теория циклогении, как нечто новое, «модное», стала постепенно привлекать внимание ряда микробиологов, Сергей Николаевич одним из первых нанес серьезный удар этому учению, и удар особенно чувствительный потому, что, как это всегда бывало в исследованиях С. Н. Виноградского, его возражения были основаны на результатах тщательных экспериментальных исследований, проведенных с азотобактером.

Проверка основных положений циклогении, осуществленная в свое время микробиологами, принесла и некоторую пользу. Безупречные эксперименты, в частности изучение истории развития, осуществленное путем наблюдений над живыми клетками, убедили многих исследователей в том, что хотя основные положения циклогении и неверны, но морфология и циклы развития микробов все-таки сложнее, чем они описывались раньше в руководствах по микробиологии. Была установлена способность бактериальных клеток образовывать покоящиеся формы, делиться на неравномерные отрезки, образовывать карликовые формы, давать неклеточные формы, способные проходить через бактериальные фильтры, и т. д. Оказалось также, что бактерии способны размножаться не только путем деления клетки пополам. Некоторые из новых наблюдений не встретили сочувствия у С. Н. Виноградского, в частности, он подверг критике работы, сообщавшие о возникновении фильтрующихся форм у микробов, существование которых, как неклеточных форм жизни, признается сейчас большинством микробиологов.

В своих микробиологических исследованиях Виноградский всегда подчеркивал, что морфология микробов подвергается значительным изменениям в зависимости от характера внешних воздействий. Среда, по его мнению, оказывает огромное влияние на внешний вид микроорганизмов. В тексте настоящей книги читатель неоднократно столкнется с высказываниями С. Н. Виноградского о том, что характер питания микроорганизмов, а также влияние различных внешних агентов играют большую формообразующую роль.

В качестве третьей проблемы, которая неразрывно связана с творчеством С. Н. Виноградского, следует указать на экологию почвенных микроорганизмов. Эти вопросы привлекли особенное внимание Сергея Николаевича уже во второй половине его жизни. Обладая большим опытом исследователя, он имел возможность охватить достижения современной общей и почвенной микробиологии и придти к правильному выводу о том, что в то время как изучение морфологии, физиологии и биохимии чистых культур микробов значительно продвинулось вперед, достижения в области изучения биологии микробов, обитающих в их естественных субстратах, более чем скромны.

В работах С. Н. Виноградского мы встречаем блестящую критику недостатков классической микробиологии. Его указания на то, что чистые культуры микробов представляют собой физиологический артефакт, вызванный изменениями условий жизни, вполне справедливы. Условия лабораторной жизни для микробов, выращивание их на средах, резко отличающихся по своему составу от условий жизни в почве, длительные пересевы микроорганизмов в чистых культурах, лишенных естественных симбионтов или антагонистов, все это настолько изменяет их биологию, что трудно бывает экстраполировать, исходя из данных, полученных при изучении чистых лабораторных культур. Невозможно также утверждать, что деятельность микроорганизмов в лаборатории и в почвах одинакова.

Иронические замечания Сергея Николаевича по поводу «сахарного» азотобактера или культур, пробывших в музее в течение длительного ряда лет, сейчас понятны каждому микробиологу.

Заслуга С. Н. Виноградского заключается в том, что он не ограничился указаниями на несовершенство методов исследований, применяющихся в почвенной микробиологии, а, не убоившись исключительных трудностей, которые, естественно, его ждали, приступил к экспериментальному разрешению вопросов экологии микроорганизмов.

О значении методического приема можно судить, сопоставив результаты, полученные при помощи этого приема, с теми данными, которые были добыты ранее другими способами. Если мы произведем такую оценку метода прямого подсчета клеток в почве, предложенного С. Н. Виноградским, то вынуждены будем признать, что он впервые дал нам реальное представление о биомассе микробов в почве, о количестве в ней микроорганизмов. Там, где раньше в 1 г почвы фигурировали десятки и сотни тысяч клеток, оказались миллиарды их; в тех же случаях, когда микроорганизмы при употреблении старых методов отсутствовали, как это имело место при исследовании некоторых образцов воды, прямой метод позволил обнаружить бактерии.

Многочисленные исследования, проведенные в различных странах и подтвердившие исключительно высокое содержание бактерий в почве, тем самым произвели и оценку этого метода. После этих исследований мы получили право с еще большим основанием говорить: «почва — это нечто живое». Значительная роль микроорганизмов в биодинамике почвы подчеркивалась Костычевым, Докучаевым, Ивановским, Вильямсом, но нельзя не отметить, что выяснению действительной мощи этого процесса способствовал также метод количественного определения микробов в почве, предложенный Виноградским.

В ранние периоды развития классической медицинской микробиологии постоянно возлагалась надежда на то, что может быть предложена универсальная питательная среда, одинаково пригодная для развития самых различных микроорганизмов. Истоком этого направления было, по видимому, учение Коха и предложенный им метод выделения микроорганизмов. Уже в начале своей деятельности Виноградский исходил из правильного представления о том, что микроорганизмы обладают исключительно разнообразными функциональными особенностями и что существование универсальной среды невозможно. Условия культивирования, источники энергии, источники азота и углерода — вот те факторы, которые необходимо варьировать, желая выделить из природы те или иные микроорганизмы, так как экология последних исключительно разнообразна. Именно таким образом возникло учение об элективных средах, созданное Виноградским и представляющее одну из блестящих страниц нашей отечественной микробиологии.

Исходя из различного биохимизма и энергетики микробов, он предложил выращивать микроорганизмы в условиях, оптимальных для развития одного вида, обладающего специфическими функциями. Другие виды бактерий в этих условиях не размножались совершенно или их рост был весьма незначительным. Среда с сероводородом для серобактерий, с солями закиси железа для железобактерий, аммонийными солями для нитрификаторов первой фазы — все это примеры элективных сред. Этот экологический принцип получил всеобщее признание, и в настоящее время элективные среды применяются при определении содержания различных физиологических групп микробов в почве или водоемах, для получения

накопительных культур возбудителей самых различных превращений углерода, азота, серы, железа, фосфора и др.

Применение Виноградским безазотистой среды позволило впервые выделить чистую культуру анаэробного фиксатора азота — *Clostridium pastorianum* и, используя этот прием в дальнейшем, получить культуры аэробного фиксатора азота — азотобактера.

Сергей Николаевич рекомендовал своему ученику, в дальнейшем академику, В. Л. Омелянскому применить элективную среду, содержащую в качестве единственного источника углерода фильтровальную бумагу, для выделения анаэробной целлюлозной бактерии. Общеизвестно, с каким успехом Омелянским была разрешена эта задача. Много лет позже сам Виноградский применил кружки фильтровальной бумаги на пластинках кремнекислого геля в качестве элективной среды для выделения аэробных целлюлозных бактерий.

Элективные среды стали исключительно широко применяться в самых различных отраслях микробиологии, однако следует отметить, что детальное изучение физиологии и биохимии микроорганизмов постепенно выясняет, что для их оптимального развития иногда необходимо присутствие в среде определенных аминокислот, витаминов, микроэлементов и т. п. В свете современных данных о физиологии питания микробов, элективные среды иногда оказываются недостаточно полноценными и поэтому, применяя их для определения количества микроорганизмов, находящихся в том или ином естественном субстрате, мы можем получить более низкие цифры, чем количество микробов, которое действительно содержится в этом субстрате. Поэтому элективные среды полностью сохраняют свое значение при получении накопительных культур возбудителей определенных биохимических процессов, необходимых для дальнейшего получения чистых культур. Что же касается количественного учета микроорганизмов при помощи элективных сред, то, по отношению к организмам с резко выраженным гетеротрофным характером питания, они могут оказаться недостаточно полноценными.

Исходя из существующей среди микробов специализации функций, С. Н. Виноградский предложил целый ряд приемов, позволяющих установить те группы микроорганизмов, которые находятся в почве постоянно, и таких, которые начинают усиленно размножаться после внесения в почву тех или иных органических веществ. Весьма оригинальным было его предложение производить посевы почвы в чашки Петри, содержащие элективные среды для разнообразных физиологических групп микробов. Не меньший интерес представляет его метод почвенных пластинок, заключающийся в том, что в почву вносится источник энергии, а затем из этой почвы приготавливаются пластинки, на которых в дальнейшем развиваются микроорганизмы, например, азотобактер. Мы не будем останавливаться на всех этих приемах, так как они подробно изложены в соответствующих статьях книги.

Создав экологическое направление в изучении микрофлоры почв, Виноградский решал экспериментально вопросы, связанные с особенностями обмена микроорганизмов. Нужно сказать, что вопросы адаптации микроорганизмов к различным типам почв, осмотическому фактору, различным солям, температуре, различной влажности, не привлекали внимание Сергея Николаевича. Об этом не приходится жалеть, так как именно приспособление микробов к перечисленным факторам изучено, если не полно, то во всяком случае гораздо лучше (Е. Н. Мишустин, Н. Н. Сушкина), чем приспособления почвенных микроорганизмов, связанные с

физиологией их питания и получения энергии. Именно в этой, наиболее трудной области Виноградский наметил пути для дальнейших экологических исследований.

Стремление заглянуть «внутрь» почвы, посмотреть, как выглядит микроб в естественной среде обитания, выяснить особенность его функции в почве побудило и других исследователей разрабатывать новые методы изучения биологии почвенных микроорганизмов (Н. Г. Холодный).

В работах Виноградского, содержащихся в этом томе и объединенных в раздел, посвященный методам, содержатся критические замечания по адресу исследователей, изучавших чистые культуры. Их особенно много в главе об азотобактере. У читателя может создаться впечатление, что Виноградский призывает отказаться от изучения чистых культур, считая этот метод устаревшим, а предлагает заменить его полностью другими, экологически оправданными способами исследований. Такое заключение будет неверным, так как на протяжении десятилетий одно из самых веских возражений, которое выдвигалось Виноградским в полемике со своими оппонентами, заключалось в том, что они не имели чистых культур микроорганизмов. Замечание такого характера было им сделано по адресу Бэрка, работавшего с нечистыми культурами азотобактера, многих исследователей, имевших нечистые культуры нитрифицирующих бактерий, и т. д. Следовательно, вывод о физиологических особенностях микроорганизма может быть сделан только на основании изучения чистых культур. Классическими примерами, подтверждающими это положение, являются работы Виноградского с нитрифицирующими бактериями, анаэробными азотфиксирующими бактериями и азотобактером. Сам С. Н. Виноградский не противопоставляет метод элективных сред и применение различных экологических методов изучения почвенной микрофлоры экспериментам с чистыми культурами микроорганизмов. Заключивая одну из своих работ, он отмечает это обстоятельство и говорит о том, что нужно сочетать оба эти метода.

Исключительная наблюдательность, талант экспериментатора, необычайная точность в анализах, способность весьма критично анализировать результаты как своих, так и чужих экспериментов и неумолимая логика позволяли С. Н. Виноградскому легко выяснять источники ошибок своих оппонентов. За долгие годы работы Сергей Николаевич много раз публиковал статьи, содержавшие ответы на сделанные ему возражения, и критический разбор новых исследований, посвященных интересовавшим его проблемам. Все эти статьи могут служить образцом того, как следует вести научную полемику. Возражения Виноградского основывались не на предвзятых идеях или гипотезах субъективного характера, а на блестящем знании фактической стороны вопроса, на обнаружении ошибок методического характера. Здесь уместно вспомнить прекрасные слова Леонардо да Винчи: «истинная наука та, которую опыт заставил пройти сквозь чувство и наложил молчание на языки спорщиков и которая не питается сновидениями своих исследователей».

На протяжении многих лет С. Н. Виноградский критиковал попытки доказать, что нитрификация вызывается многими бактериями. Особенно остроумны были его возражения, сделанные Бейеринку, который считал, что нитрифицирующие бактерии могут переходить в неактивное состояние и при этом перестают вызывать нитрификацию. Также последовательно он защищал автотрофность железобактерий в связи с работами Молиша, Лёниуса, Элліса и др. Экспериментируя лично, Виноградский в деталях знал особенности изучаемых им микроорганизмов и это позволяло