

土壤微生物学

问题和方法

C. H. 維諾格拉德斯基著

科学出版社

土 壤 微 生 物 学

問 題 和 方 法

C. H. 維諾格拉德斯基 著

閻 遜 初 譯

科 学 出 版 社

1 9 6 2

S. WINOGRADSKY
MICROBIOLOGIE DU SOL
PROBLÈMES ET MÉTHODES
Masson et Cie, Éditeurs, 1949, Paris

內 容 簡 介

本书是现代土壤微生物学创始人维诺格拉德斯基的论文集,可以说把他对于这门学科的伟大贡献全部都包括在内了。所研究的微生物主要有各种固氮菌、硝化菌、纤维素分解菌、硫细菌、铁细菌等。他对于这些微生物的形态、生理,尤其是生态做了精密的研究,实验地批判了“变形性学说”,并提出了创造性的研究方法和理论原则,对于土壤微生物学的发展起了很大的推动作用,至今仍有指导性的意义。

本书适于高等院校、研究机关的微生物学工作者,尤其是与土壤微生物学有关的教学和研究人员参考。

土 壤 微 生 物 学
問 題 和 方 法

C. H. 維諾格拉德斯基 著

閻 遜 初 譯

*

科 学 出 版 社 出 版 (北京朝陽門大街 117 号)

北京市书刊出版业营业登记证出字第 061 号

中国科学院印刷厂印刷 新华书店总经销

*

1962 年 10 月第 一 版

书号: 2618 字数: 818,000

1962 年 10 月第一次印刷

开本: 787×1092 1/18

(京) 0001—1,410

印张: 40 1/3 插页: 47

定价: 8.60 元

“我把一個試驗放在許多只是想象的見解之上”——羅蒙諾索夫

C. H. 維諾格拉德斯基和他的創造*

1894年在莫斯科召開第九屆自然科學工作者和醫師會議。這次會議引起科學家、醫師和作家的廣泛注意。K. A. 季米里亞捷夫出席了這次會議，他使來聽具有哲學意義的報告的列夫·托爾斯泰很感興趣。在全体會議上，彼得堡實驗醫學研究所普通微生物室主任 C. H. 維諾格拉德斯基做了“關於自然界中的氮循環”的報告。此外在特別會議上，他還做了關於同化空氣氮的細菌的報告。

由於這些報告報導了在俄國實現的傑出的科學發明而引起普遍的注意。首次用實驗的方法證明存在着能夠同化大氣氮的特異性細菌，而且表明這些細菌廣泛分布於土壤中，因而這一過程和土壤氮的增富就有直接的關係。C. H. 維諾格拉德斯基報導他已經從土壤成功地分離出嫌氣性生芽孢的細菌，他命名為巴氏芽孢梭菌 (*Clostridium pastorianum*)。這種菌在無氮培養基上生長，利用碳水化合物做為能源並且固定分子氮。

這是世界上第一個以實驗研究成功地得到固氮細菌的純培養并用無可非議的化學分析證明它們能夠和氮發生關係。這種微生物的發現，說明土壤不但由於細菌所引起的反硝化作用喪失氮，而還存在着補償這種損失并使土壤含氮量豐富的相反的過程。使土壤氮量增富的問題對於農業說來總是中心問題之一。因此，這些研究所引起的興趣是可以理解的。無怪近 50 年來致力於固氮微生物的發表的文章已達 200 篇。

這篇文章的任務在於介紹 C. H. 維諾格拉德斯基的生平並對於他 50 多年的科學活動進行簡短的分析。預先略談一談這本書的歷史。

在偉大衛國戰爭之後不久，C. H. 維諾格拉德斯基就向蘇聯科學院院長瓦維洛夫 (С. И. Вавилов) 請求用俄文出版他的著作的選集。С. И. 瓦維洛夫表示同意並

* 本文系蘇聯科學院通訊院士 A. A. 依姆歇涅茨基為俄譯本而寫的序言，為便於讀者更好地了解本書，特譯出轉載于此。——譯者注

让我准备印刷从法文翻譯来的譯本,还为此书写一篇序言。

C. H. 維諾格拉德斯基的“土壤微生物学”是他的論文的选集。它是由篇幅不同的十个部分組成的。第一部分讲述自养菌,包括5篇关于硫細菌和鉄細菌的論文。第二部分内有和細菌形态的研究有关的三篇著作。丰富的第三部分是由14篇关于硝化作用的研究組成的。第四部分包含嫌气性固氮的4篇报导。不大的第五部分只有亚麻微生物浸解的一篇論文。包括7篇論文的第六部分讲述土壤微生物学的研究方法。第七部分含有关于纖維素好气性分解的3篇报告。篇幅最多的第八部分全部讲述关于好气自生固氮菌的生态、形态和生理的研究。两篇涉及共生固氮的报告是第九部分的内容。末了,生态微生物学原則的闡述构成本书的最后部分(第十部分)。

在每部分之前,C. H. 維諾格拉德斯基把与本部分所討論的問題有关的工作列出一覽表并指出未收入此书中的研究工作。

每部分之前有前言,著者在前言內分析問題的状况,以近50年来所发生的变化观点談論問題的历史。这些前言是非常有意义的。

遺憾的是,在論文选集內未曾放入希望在这本书內看到的C. H. 維諾格拉德斯基的一些工作和論文。这是說他在彼得堡大学在法明秦(Фаминцын)教授领导下所完成的关于酵母状真菌——醱酵母(*Mycoderma*)的生理的最初一些工作。下文我們將簡短介紹这些工作的内容。缺少他1887年在实验医学研究所年会上所做的講演——“微生物在一般生命循环中的作用”,也缺少在全俄自然科学工作者和医师第九屆代表大会上所做的关于氮循环的上述两个报告。

C. H. 維諾格拉德斯基选集的翻譯是由微生物学专家实现的。

关于細菌的形态和自养微生物的生物学的放在前两部分內的論文是由什图尔姆(Л. Л. Штурм)翻譯的。关于硝化作用的前六篇論文是麦赫季也夫(В. Л. Мехтнев)翻譯的。关于硝化細菌的其余8篇文章、嫌气性固氮、亚麻浸解和土壤微生物学研究方法的論文是苏什金(Н. Н. Сушкин)翻譯的。而关于纖維素微生物学、共生固氮作用的研究和“生态微生物学原則”等論文是拉鮑特諾夫(И. Л. Работнов)翻譯的。他还对于整个出版物进行了科学的校閱。

乘此机会向上列同志表达深厚的謝意,他們非常忠誠和熟練地完成了这个艰巨而重要的工作。

現在談一談謝尔格·尼科拉耶維奇·維諾格拉德斯基的传略。

他在1856年9月1日出生于一个富裕的法学家家庭里。1866年編入基輔第二中学二年級,1873年毕业并得金質奖章。然后他进入基輔大学法学院,但不久就

轉入物理数学院的自然系,在那里停留了两年多。在三年級的时候,С. Н. 維諾格拉德斯基离开了大学,对于音乐很感兴趣,进入彼得堡音乐学院,随列謝季茨基(Лещетницкий)教授学习鋼琴,然而音乐的課程不能充分滿足他的精神需要,他重新为科学所吸引。1877年11月他放弃音乐学院而进入彼得堡大学自然系第二班。不过謝尔格·尼科拉耶維奇对音乐的爱好使他終生是一位优秀鋼琴家和大提琴家。

在上述时期中,彼得堡大学的教授成員是非常好的。就如上世紀80年代占据講座的是一些杰出的俄国学者。只須提起門德列夫、門舒特金(Меншуткин)、布特列罗夫(Бутлеров)、法明秦、別克托夫(Бекетов)和伊諾斯特兰切夫(Иностранцев)的名字就够了。

С. Н. 維諾格拉德斯基自修时特別注意化学,尤其是在門舒特金的领导下对于分析化学取得了丰富的經驗。后来,大学毕业以后,在不同的高等学校的实验室内工作,謝尔格·尼科拉耶維奇也总关心化学分析的方法,特別是在許多化合物中定氮的方法。

1881年,С. Н. 維諾格拉德斯基毕业于彼得堡大学,得到毕业证书并获得副博士学位。大学毕业后,他即被留在大学中进修教授职位。主要是在大学的植物生理学实验室内在法明秦的领导下进行准备。我們认为后者对于俄国植物生理学的发展很有貢獻,而在上世紀之末使人对于微生物学和真菌学发生兴趣也归功于他。在法明秦的实验室内,С. Н. 維諾格拉德斯基进行了他的第一个实验研究工作。他闡明了外界条件对于葡萄酒醱酵母(*Mycoderma vini*)的形态和培养特征的影响。经过单細胞分离之后,这种真菌在显微小皿内发育,在培养条件的影响下,可以看到細胞形态的变化。在小皿内添加各种成分不同的新鮮培养基,排除二氧化碳。大概这是第一次用显微小皿进行这样的研究。所做的試驗确定醱酵母发育不需要鈣,然而鎂是必須的。証实可以以鉀代替鈣。

这些微生物实验形态学的研究能够得到許多有意义的資料,但其中大部分都未曾发表,只在1888年在彼得堡大学自然科学工作者协会报告书内有它們的預报。

同时,С. Н. 維諾格拉德斯基准备植物学碩士学位的考試。1884年秋季他考过了。从1885—1888年,他在斯特拉斯堡大学植物实验室在德巴利(de Bary)的领导下进行工作。在那里他进行了硫細菌和鉄細菌的形态和生理的研究。这些实验使С. Н. 維諾格拉德斯基确定了鉄細菌和硫細菌的生理特征,他們是賴无机化合物的氧化得到能量的。并且指出虽然絲狀細菌具有复杂的发育循环史,但是极端变形主义者左夫(Zopf)的观点未被研究所証实。

研究硫細菌和鐵細菌时，C. H. 維諾格拉德斯基主要应用了选择培养的方法。后来这个方法得到了很为广泛的传播。

謝尔格·尼科拉耶維奇下一段生活时期是和他在苏黎世的工作关联着的，从1888—1890年，他在那里居住。在这一时期內他出色地解决了硝化作用这个复杂的问题。他不但指出这个过程的生物学本质，而且还分离出氧化氨成亚硝酸盐的媒介菌和氧化亚硝酸盐成硝酸盐的特异性微生物。

这些杰出的研究使 C. H. 維諾格拉德斯基成为当代最卓越的生物学家之一。1890年夏季，关于硝化作用的工作发表之后，梅契尼科夫就到苏黎世去訪問他。梅氏以巴斯德的名义邀請他担任巴黎巴斯德学院的实验室主任。1891年 C. H. 維諾格拉德斯基到巴黎拜訪了巴斯德，巴氏重新邀請他在那里工作。然而那时在俄国正在組織一个大的科学研究中心——彼得堡实验医学研究所。当謝尔格·尼科拉耶維奇得到领导这个研究所的微生物室主任的提議时，他拒絕轉到巴斯德学院去，宁愿在俄国工作。

1891年8月他被批准为实验医学研究所普通微生物室主任。这个室一直存在到1937年。C. H. 維諾格拉德斯基的工作的意义是如此显著，以致1892年哈尔科夫大学委员会未經論文答辯就授与他植物学博士学位，1894年他被选为俄国科学院通訊院士。

在彼得堡实验医学研究所工作，C. H. 維諾格拉德斯基进行他的关于微生物嫌气性固氮的经典研究。同时他和弗利伯共同发表了关于亚麻浸解媒介菌的报告。这是第一批分离为純培养并具有分解果胶类物质的能力的有机体。很少人知道在这同一时期內 C. H. 維諾格拉德斯基对于医学微生物学和流行病学很感兴趣，特别是他写了“关于鼠疫传染和預防及治疗腺鼠疫的新葯剂”的論文。他也进行了表面有鼠疫病菌的各种物体的消毒試驗。但是这类性质的研究是偶然的，以后謝尔格·尼科拉耶維奇并未重作。

1901年莫斯科自然知識、人类学和人种学爱好者协会选他为名誉会员，1902年法国科学院选他为通訊院士。

主持实验医学研究所內的普通微生物室，C. H. 維諾格拉德斯基同时是“生物科学档案”杂志的負責編輯。1902年他被任命为实验医学研究所所长。

希望把俄国的微生物学家联合起来，1903年 C. H. 維諾格拉德斯基建立微生物学会，成立的头两年他是学会的主席。

然后在謝尔格·尼科拉耶維奇的生活中来到了一个使他几乎完全抛开了科学工

作的时期。这个时期从1912年他辞去实验医学研究所职务开始，一直延长到1922年他担任巴黎巴斯德学院农业細菌室主任为止。这个研究室离巴黎有30公里（在布利-孔德-罗伯）。和住所及实验室毗邻的是其上有能够得到新鲜土样的花园的小块土地。1921—1922年間，从新着手实验研究之前，C. H. 維諾格拉德斯基分析了土壤微生物学的状况并得出结论：已有的土壤微生物学研究方法不能满足微生物学家的要求。因此，他的第一个研究工作是致力于土壤微生物学研究新方法的拟定。后来他引用了土壤微生物学研究的直接方法，用以进行好气自生固氮菌的生态和生理的广泛研究和纤维素好气性分解的有意义的研究，并完成了关于硝化作用的新的工作。

1923年，C. H. 維諾格拉德斯基被选为那时称为俄国科学院（РАН）的苏联科学院的名誉院士。

1923年12月1日全体会议的会议记录上列有：

“常任秘书报告院士日记：加尔平斯基（А. П. Карпинский）、斯捷克洛夫（В. А. Стеклов）、鲍罗金（И. П. Бородин）、纳索诺夫（Н. В. Насонов）、巴甫洛夫（И. П. Павлов）、庫尔纳科夫（Н. С. Курнаков）、費尔斯曼（А. Е. Ферсман）、科馬罗夫（В. Л. Комаров）、科諾瓦洛夫（Д. П. Коновалов）、苏什金（П. П. Сушкин）、奥美梁斯基（В. Л. Омелянский）和科斯蒂切夫（С. П. Костычев）选举俄国和法国科学院通讯院士C. H. 維諾格拉德斯基为俄国科学院的名誉院士。規定：

1. 日记打印在会议记录附件内；
2. 在全体会议行将召开的特别会议内投票选举 C. H. 維諾格拉德斯基为俄国科学院名誉院士。

在这篇比較短的文章里，自然不能对于 C. H. 維諾格拉德斯基很多方面的全部创作加以分析，只是将来才能予以确切的评价。

就象在緒論里有时做的那样，簡短說明这本巨著各个部分的内容是没有意义的。我們只談談和 C. H. 維諾格拉德斯基的名字相关联着的三个大問題，首先是他对于微生物界化能合成作用的发现。

注意到硫細菌細胞內硫黃滴的出現并且以后硫黃又消失，維諾格拉德斯基首先遇到和化能合成作用有直接关系的这一事实。在微生物学史上这些研究是有巨大意义的，因为毫无疑问，在維諾格拉德斯基以前許多研究者都观察到在硫細菌細胞內出現硫黃滴，但是任何人从来没有把这一过程和微生物的能量来源联系起来。通常，当

談到化能合成作用时,都以硝化細菌为化能合成的代表。不能不同意維諾格拉德斯基曾經很仔細地研究了硝化作用这一个微生物生理中最有意义的現象。他分离出純培养,确定了氨的氧化和二氧化碳的还原之間的关系,对于硝化細菌各种不同的品系进行了比較研究等等。然而硝化細菌和鉄細菌的研究是他关于硫細菌的最初一些工作的邏輯上的繼續。也必須指出,关于氨的生物氧化的观念在巴斯德的时代就已发生,并且在这个問題上維諾格拉德斯基是先驅者,他虽然沒有分离出微生物的純培养,但已无疑地証明这是一个生物学过程,并且其中有两个阶段。与这个事实的确定相反,能够进行化能合成作用的硫細菌則是完全独創的輝煌的发现。在这过程中,C. H. 維諾格拉德斯基完全沒有先驅者,也沒有能使他想到这一发现的观察。仅仅借助于杰出的观察家的独特的观察能力和他的巨大才能,把細胞內硫黃滴的消失和同化碳酸所必須的能量的获得联系起来。这里最好是託謝尔格·尼科拉耶維奇本人发言。关于硫細菌——貝氏硫細菌 (*Beggiatoa*)——生理的研究,他在他的回忆录內写道:

“……4 个学期过去了,这些現象的意义仍然不清楚,我很苦悶。沒有相似的东西,也沒有可以說明这些現象的观念。就象时常发生的那样,完全是偶然和意外的,在工作時間之外在街上好象某人偷偷告訴了似的,这个观念就来临了。全部汇集的現象很快就理解了,迅速准备好,几个月就弄清楚了。”

在 C. H. 維諾格拉德斯基关于化能合成作用的最初几篇論文出現以后,已經过了大約 65 年。建筑在花崗岩般的基础——精确的實驗之上的化能合成作用的严整的結構一直保持到現在。这并不意味着多年来沒有人企图推翻維諾格拉德斯基的基本原理。所有批判化能合成作用学說的論文內容的綜述可能是专门研究的命題。在一些情况下,分离出硝化菌的不純的培养,根据用这些培养做的工作指出硝化菌可能做为腐生菌生存得很好。在另一些工作里提出这样的見解:随着培养基成分的不同硝化細菌或者获得或者丧失化能合成作用的能力。因而化能合成菌容易变为异养菌,反轉过来也是一样。也曾试图証明不应该把化能合成作用看做是获得能量的特异性过程,并且在各种不同的微生物中也观察到相类似的現象。就如屡次把給予鉄細菌以能量的低氧化鉄的氧化和鉄的沉淀混为一談,而鉄的沉淀是由絲状和其他細菌在含有鉄的有机化合物的环境內发育的結果。还有一些不足以令人信服的研究力图証明硝化細菌除了氧化氨以外,还具有“普通的”呼吸过程,氧化有机質而形成碳酸。

在十年的長時間內, C. H. 維諾格拉德斯基相繼反駁化能合成作用概念的所有伪造并以非常的才能在其反对者的实验研究里找到弱点,揭发他們的試驗中导向不正确的結論的錯誤。 C. H. 維諾格拉德斯基关于无机氧化菌 (化能合成作用微生物)

物)的學說取得了普遍的承認并已經受住時間的考驗。當然,這並不是說 65 年來用微生物學和生物化學的改良的方法未曾積累和這個問題有直接關係并對於這一學說有所補充的新事實。

這些年內提出了分離自養細菌培養的新方法,用显微操作器分離出硝化細菌的純培養,研究了微量元素對於硝化菌生長的影响,提出借助於在厚層矽酸凝膠內接種而得到這些菌的純培養的方法。然而,所有這些補充都是以化能合成作用不受任何改變的觀念為基礎的。現在,大部分研究者開始清楚了,嚴格的“經典的”自養菌知道得不多。硝化細菌、某些鐵細菌、硫氧化細菌,可能還有一些其他的種屬於自養菌。這些類羣的生理的深入研究闡明除了化能合成作用菌之外,還有既能以自養的方式又能以異養的方式生存的大量各種不同的雜養菌。氫細菌可以作為具有這樣的生理的微生物的最好的實例。大概由於它們有能夠活化氫的脫氫酶并在有二氧化碳存在時以自養的方式生存,同時它們在實驗室操作所用的普通培養基上發育得很好。然而,應該着重指出雜養菌的存在絲毫不減少 C. H. 維諾格拉德斯基的發現的意義,也并不反駁絕對自養菌的存在。自然,很多的異養微生物表現能夠吸收 CO_2 也不使化能合成作用的意義減少。俄國科學家列別杰夫 (А. Ф. Лебедев) 首次證明的異養菌同化二氧化碳具有很大的理論意義。但是在此種情況下它和化能合成作用沒有任何相似之點。

C. H. 維諾格拉德斯基對於自養細菌的研究還是在實驗室實踐尚未達到足夠高度的上世紀進行的。這就更使人讚揚維諾格拉德斯基為了說明氧化的氮和還原的碳酸之間的比例所做的試驗的精確性。比較晚得多的時候,麥耶爾戈弗用更為完善的方法重複這些研究,不但證實了維諾格拉德斯基的基本原理,而且所得到的數字和我們的傑出的微生物學家的試驗所得到的數字很接近。

維諾格拉德斯基對於硫細菌和鐵細菌的研究是在這些微生物的生態的基礎上進行的。因此,以後以這些原則為出發點的學者證實了維諾格拉德斯基所確定的基本原理。

這就涉及 H. Г. 荷洛德奈關於鐵細菌的形態、分類和生態的優秀的研究。這些研究在謝爾格·尼科拉耶維奇方面得到了很高的評價;因為他們發展並且補充了他的研究,賦予許多有價值的新東西。

化能合成作用的理論早在上世紀之末就不僅對於微生物學有突出的意義。它已引起生理學家、化學家和植物學家的注意。在不同的學者提出的學說之中不容易找到象上述學說那樣經過 65 年還完全保存其意義的其他實例。化能合成作用的理論

在另一方面是特殊的。建立这个学說的学者在65年的期間內得能看着他的观念的发展并且每年在他的全部工作中加以証实。这本书就是研究者所能得到的巨大奖賞。

直到現在还没有失去其意义并且一再引起 C. H. 維諾格拉德斯基的注意的第二个問題是关于微生物形态、发育循环史和变异性的研究。当謝尔格·尼科拉耶維奇开始他的科学活动的时候,广泛传播着一些观点,按照这些观点,各种不同的細菌种是同一种的时间上的状态。比真菌学发展較晚的微生物学也遭受了一些波折、爭論和錯誤。这些在具有复杂的发育史并在其个体发育中形成各种不同的阶段的真菌的研究中早已发生过了。就如按照左夫的意見,在“高等細菌”內主要的形状是絲狀的,可以观察到 B. Л. 奧美梁斯基恰当地称为混乱的变异。維諾格拉德斯基是不借助于染色的标本而用在悬滴內活細胞的观察最先解决这一問題的学者。C. H. 維諾格拉德斯基研究两歧枝絲細菌 (*Cladothrix dichotoma*) 的生活史,确定了它有一定的发育史。并且他发现被左夫列入独特的种的一些培养事实上是由各种不同的微生物組成的混合培养,换言之,就象当时所說的“集合种”构成的。

每个科学家的活动的評價在历史关系上應該是正确的。无可爭論,在上世紀的80年代,清理不大了解的微生物界不和变形論进行斗爭就不能实现。那时无限的变异性的任何揭穿都是进步的,因为它減輕了探寻新的微生物的任务。在同一时期探寻时常表现为“猎取微生物”。这里必須強調指出維諾格拉德斯基从来不是永恒不变的种的拥护者,在他的論文里讀者可以找到他批評单形論者立場的許多陈述。

經過多年之后,謝尔格·尼科拉耶維奇又回到形态学問題上面来。当时外国的学者正在致力于建立具有形而上学性質的荒誕无稽的循环发生学說。由于賴尼斯报导了好气自生固氮菌异常复杂的发育史, C. H. 維諾格拉德斯基对于这种菌进行了詳細的研究并得出賴尼斯的資料是没有根据的結論。維諾格拉德斯基批判循环发生理論,公正地着重指出它在很大程度上是以未經严肃批判的錯誤的文献資料編纂为根据的,而并不是以自己的广泛实验材料为根据的。在这方面他是完全正确的,因为賴尼斯关于生活史的专論本身是其他人的工作的引証和摘录,以及从旁人的研究工作借用来的繪图的广泛汇编。賴尼斯自己的观察是很少的。循环发生論否認微生物的发育,把全部的变异合并为从一个生活阶段过渡到另一个生活阶段的閉塞的发育循环史,这是和唯物主义的生物学格格不入的。它已受到全面批判性的分析,这些分析主要是苏联微生物学家的力量实现的,并且是以精密而广泛的实验研究为基础的。因此特愉快地指出,当循环发生学說好象是什么新的“时髦的”东西开始逐漸引起許多微生物学家注意的这个时期,謝尔格·尼科拉耶維奇是首先給这个学說以严重打

市的人之一。打击特別沉重是因为，就象 C. H. 維諾格拉德斯基的研究总是那样，他的反对的意見是以用好气自生固氮菌进行的精細的实验研究的結果为基础的。

微生物学家及时地对于循环发生論的基本原理所进行的检查是有些好处的。尤其是借助于活細胞的观察所进行的发育史的研究使許多研究者都信服了这样一点：虽然循环发生論的基本原理是不正确的，但是微生物的形态和发育史毕竟是复杂的，就象在微生物学指南早先所描述的那样。已經确定細菌細胞能够形成休止类型，分割成不均等的小段，形成矮小的类型，产生能够通过細菌滤器的非細胞形态等等。也曾发现不借助于細胞分裂为两半而繁殖的細菌。某些新的观察沒有得到 C. H. 維諾格拉德斯基的同情。其中他批評了报导微生物中过滤型的发生的工作，这些做为生命的非細胞形态的类型的存在現在已为大多数微生物学家所承認。

維諾格拉德斯基在他的微生物学研究中总是強調指出，随着外界影响的性質，微生物的形态要遭受相当大的变异。按照他的意見，环境对于微生物的外貌有很大的影响。在現在这本书的文字里，讀者不止一次地遇到 C. H. 維諾格拉德斯基的主张：微生物营养的性質还有各种不同的外界因素的影响在形态形成上起很大的作用。

做为和 C. H. 維諾格拉德斯基的創作密切关联着的第三个問題應該是土壤微生物的生态。这些問題在謝尔格·尼科拉耶維奇的后半生特別引起他的注意。具有研究者的丰富經驗他才能够概括現代普通微生物学和土壤微生物学的成就，并得出正确的結論。当微生物純培养的形态、生理和生化的研究快速进展的时候，在居住于自然基質內的微生物的生物学的研究的領域內成就是比較少的。

在 C. H. 維諾格拉德斯基的論文中，我們遇到对于經典微生物学的缺点的光輝的批判。他指出微生物純培养本身是生活条件的改变所引起的生理的謬象，这是完全正确的。对于微生物說来，实验生活条件，在成分上和土壤內生活条件很不同的培养基上培育它們，在除去自然共生者和拮抗者的純培养內长期接种微生物，所有这些如此改变它們的生物学，以至难于根据实验室純培养的研究所得到的資料进行推論。也不能断言微生物在实验室和在土壤內的活动是同样的。謝尔格·尼科拉耶維奇关于“糖”好气自生固氮菌或者在保藏所居留多年的培养的諷刺的批評現在对于每个微生物学家都是可以了解的。

C. H. 維諾格拉德斯基的功績在于不局限于指出在土壤微生物学中所用的研究方法是不完善的，而且不为用实验的方法着手解决微生物生态問題自然要遇到非常大的困难所吓倒。

关于方法学的手段的意义可以用这些手段所得到的结果和用其他方法所取得的资料的对比加以判断。如果我们对于 C. H. 維諾格拉德斯基所提出的土壤内細胞直接計数法加以评价,就不得不承认它使我们对于土壤内微生物的生物量、对于其中微生物的数量有一个真实的概念。就如早先 1 克土壤内有几万和几十万个細胞,現在有几十亿个細胞;在同样的情况下,就如研究某些土壤时,当用老的方法沒有微生物,直接的方法可能使人发现細菌。

在各国所进行的并証实土壤内細菌的含量非常高的为数极多的研究都是用这个方法所施行和估計的。在这些研究之后我們更有根据地说:“土壤——这种活的东西”。微生物在土壤生物力学中的很大的作用已被科斯蒂切夫、道古查耶夫、依万諾夫斯基、威廉斯強調指出,但不得不指出維諾格拉德斯基所提出的土壤微生物計数法有助于說明这一过程。

在經典医学微生物发展的初期經常把希望寄托在可能提出同样适于各种不同微生物发育的万能培养基。这个方向的起源大概是郭霍的学說和他所提出的分离微生物的方法。早在他活动的初期,維諾格拉德斯基就以这样正确的概念为出发点:微生物具有极为各种各样的机能特性,不可能有万能培养基。培养条件、能源、氮源和碳源——这就是要从自然界分离出这样一些或另外一些微生物必須变化的因素,因为这些微生物的生态很是各种各样的。就以这样的形式产生了維諾格拉德斯基所創立的选择培养的理论,这是我們祖国微生物学的最光輝的篇幅之一。

以微生物的不同的生化机制和能量来源为出发点,他建議在对于具有特异性机能的一个种的发育正合适的条件下培育微生物。在这些条件下其他种細菌完全不繁殖或者生长得微不足道。为硫細菌用含硫化氫的培养基,为鉄細菌用含低氧化鉄盐的培养基,为第一阶段的确化菌用含銨盐的培养基——这都是选择性培养基的实例。这个生态学原則已为大家所公認,現在用选择性培养基測定土壤和水体内的各种微生物生理类羣以便得到碳、氮、硫、鉄、磷等等各种变化的媒介菌的增殖培养。

維諾格拉德斯基应用无氮培养基得能首次分离出嫌气性固氮菌——巴氏芽孢梭菌 (*Clostridium pastorianum*)——的純培养,以后利用这个方法又得到好气性固氮菌——好气自生固氮菌 (*Azotobacter*)——的培养。

謝尔格·尼科拉耶維奇向他的学生,后来的科学院院士 B. Л. 奧美梁斯基推荐用含有滤紙为唯一碳源的选择性培养基分离嫌气性纖維素細菌。大家都知道,奧美梁斯基如何成功地解决了这个問題。多年以后,維諾格拉德斯基自己用硅酸凝胶上的滤紙圓片为选择性培养基分离好气性纖維素細菌。

在微生物学的各个不同的部門里都极为广泛地应用选择性培养基,但是應該指出微生物生理和生化的詳細研究逐漸查明,为了它們最适宜的发育,有时必須在培养基內有一定的氨基酸、維生素、微量元素等等。从关于微生物营养生理的現代資料看来,选择性培养基有时表現不够完善,因此用它們来測定在某种自然基質內存在的微生物的数量,我們可能得到比在这种基質內真正含有的微生物的数量更低得多的数字。所以,当要得到一定生化过程媒介菌的增殖培养时,选择性培养基完全保存其意义,为了进一步得到純培养也是必須的。而用选择性培养基計算微生物的数目时,由于机体具有显著异質营养的性質,它們可能显得不够完善。

以微生物間存在着特异性机能为出发点, C. H. 維諾格拉德斯基提出能够建立微生物类羣的整整一套方法,某些类羣在土壤內經常存在,还有另一些类羣,当在土壤內加入某种有机質以后才強有力地繁殖起来。他建議在含有为各种各样的微生物生理羣的选择性培养基的佩氏平碟內进行土壤接种,这完全是獨創的。他的土壤平板法意义也不小,其法在于在土壤內加入能源物質,然后用这种土壤制备平板,以后,在平板上微生物(例如好气自生固氮菌)就繁殖起来。我們不再多談所有这些方法,因为在本书有关的論文內已經詳細說明了。

維諾格拉德斯基在土壤微生物区系的研究中創立了生态学的方向,用实验的方法解决了关于微生物代謝特点的問題。應該說明微生物对于各种不同的土壤型、渗透压因素、各种盐类、温度、不同的湿度的适应的問題未曾引起謝尔格·尼科拉耶維奇的注意。关于这点不必有所期望,因为关于微生物对于上列因素的适应虽非完全,却已很好地进行了研究(E. H. 米苏斯金、H. H. 苏什基娜),要比土壤微生物关于它們的营养生理和能量的获得的适应研究得好得多。恰好是在这个最难的領域內維諾格拉德斯基为以后生态学的研究划出了途径。

向土壤“內部”探視,看看微生物在自然環境內居住的情形,說明它們在土壤內机能的特点的意图促使其他研究者拟定了研究土壤微生物生物学的新方法(H. Г. 荷洛德奈)。

在这本书內所包含的維諾格拉德斯基的著作里,和致力于方法的篇章在一起,含有对于研究純培养的研究者的批評。其中以关于好气自生固氮菌的为最多。在讀者中可能产生一种印象,認為維諾格拉德斯基号召放弃純培养的研究,以为这个方法过时了,而建議以完全不同的生态学的証明有效的研究方法来代替它。这样的結論是錯誤的,因为在十年的期間維諾格拉德斯基在和他的反对者的爭論中提出的重要的反駁之一可归結为他們沒有微生物的純培养。对于用不純的好气自生固氮菌的培养

工作的勃尔克和具有不純的硝化細菌的培养的許多研究者等等曾提出这样的批評。因此,只能根据純培养的研究来对于微生物生理特性下結論。証明这一原理的經典的实例是維諾格拉德斯基关于硝化細菌、嫌气性固氮細菌和好气自生固氮菌的工作。C. H. 維諾格拉德斯基本人不把选择性培养基的方法以及土壤微生物区系实验研究所用的各种生态学的方法和微生物的純培养对立起来。做为他的論文之一的結語他曾指出这种情况,并且說必須把这两个方法結合起来。

非常的观察能力,实验家的天才,分析中不寻常的精确性,完全是批判地分析他自己和其他人的实验結果的能力和严格的邏輯使 C. H. 維諾格拉德斯基容易說明他的反对者的錯誤的原因。在謝尔格·尼科拉耶維奇多年的工作中多次发表了包含着对他所提出的反对意見的回答的文章和致力于他所关心的問題的新研究的評論。所有这些文章都可做为科学論战应如何进行的范例。維諾格拉德斯基的反駁并不是以偏見或帶主觀性的假說为依据的,而是以問題事实方面的清楚的認識和方法学上的錯誤的揭露为根据的。在这里正好回忆一下雷奥那尔多·达·芬奇的极好的話:“真正的科学是要通过感觉进行試驗并使好爭論的人不再說話,而不能以研究者的梦想为依据”。

在多年的过程中, C. H. 維諾格拉德斯基批評了要証明許多細菌引起硝化作用的企图。特別明智的是他对于貝頁林克所做的反駁,貝氏認為硝化細菌可能轉入非活跃状态而当这时就不再引起硝化作用。同样,鉴于莫利士、賴尼斯、愛利斯等人的工作,他始終如一地捍卫鉄細菌的自养性。維諾格拉德斯基亲自进行实验,詳細地認識他所研究的微生物的特点,这就允許他有时甚至不重复他們的試驗,一下就指出其他研究者的錯誤。当勃尔克报导在好气自生固氮菌的培养里分泌出大量的氨,按照他的意見这是脫胺作用的結果。維諾格拉德斯基提出反对的意見,認為在好气自生固氮菌的培养里出現氨是和这种微生物的固氮能力相关联着的。从分泌出的氨的量出发, C. H. 維諾格拉德斯基一下就指出勃尔克的好气自生固氮菌的培养不純,因而,由于不相干的微生物的生命活动形成了更多的氨。后来勃尔克不得不书面承認維諾格拉德斯基的批評的意見是有根据的。自然,这些实例还不仅限于他对于旁人的研究进行批評的論文。

上面指出, C. H. 維諾格拉德斯基所提出的最重要的工作和基本的学說原理直到現在还保有其全部意义。我們指的是化能合成作用、选择性培养基、土壤研究的微生物学方法、在土壤微生物生态范畴內的研究和許多其他的工作。然而,維諾格拉德斯基提出的某些假說和他对于某些事实的說明,以后并未得到証实。以大学者所慣

有的率直，C. H. 維諾格拉德斯基自己在本文內許多地方关于这些都曾加以說明。这就涉及以后闡明属于杂养菌的某些种硫細菌的生理以及好气性纖維素細菌把纖維素氧化成氧化纖維素的能力。以后的研究闡明，細菌分解纖維素总是使它水解，然后再把水解产物氧化成碳酸。C. H. 維諾格拉德斯基在纖維粘菌 (*Cytophaga*) 的培养里发现的球形物被他放在不相干的球菌內了，事实上已經知道纖維粘菌是粘細菌，在其发育循环史內会形成休止的球形阶段——小胞囊。C. H. 維諾格拉德斯基和依萊娜·維諾格拉德斯基以亚硝化囊菌 (*Nitrosocystis*)、亚硝化螺菌 (*Nitrosospira*)、膜細菌 (*Bactoderma*) 等等名字所描写的新的硝化微生物，事实上原来是属于粘細菌的异养有机体，随着經典硝化媒介菌的发育而在硅酸凝胶平板上繁殖。最后的研究闡明，在粘細菌中有以其他微生物的細胞为养料的即細菌养的种 (Бактериотрофные виды)。根据这些新的資料就会清楚了解粘細菌在硅酸凝胶平板上的发育带有次生的性质，并且是和利用硝化細菌的細胞做为唯一碳源和能源相关联着的。虽然如此，这就說明自从描述新的硝化菌长时期以来，任何人也不能証实这些机体的純培养有引起硝化作用的能力。然而，上列的所有工作都使人对于它們所涉及的問題感到很大的兴趣，并且有助于我們在这个范畴內得到深入的了解。如果 C. H. 維諾格拉德斯基沒有奠定这方面的基础，在硫細菌的生理上可能实现最新的研究嗎？纖維粘菌的发育循环史的不同解释并不减少 C. H. 維諾格拉德斯基首先說明专化好气性纖維素細菌在自然界的分布是多么广泛这一重要性。他描写了解解纖維素的新的細菌类羣，并且有助于說明它們的分类位置 and 它們的生态。他的研究結果的直接后果是确定粘細菌在植物殘余物的分解中起主要的作用。

C. H. 維諾格拉德斯基的論文选集題名为“土壤微生物学”。这是否就是说維氏应该列为土壤微生物学家呢？当然不是。普通微生物学的发展、我們关于微生物生化机制和关于微生物在自然界物質循环中的作用等概念的发展都是和維諾格拉德斯基的名字联系着的。在他的研究工作里通常見不到关于土壤熟化程度的資料，沒有土壤分类，几乎没有对于高等植物和微生物的相互关系問題进行分析，也沒有研究微生物对于土壤結構的影响。很为土壤微生物学家所注意的許多有关农业化学的問題也沒有引起維諾格拉德斯基的兴趣。他所报导的关于土壤微生物生物学的資料不但使微生物学任何部門的代表发生兴趣，而且使生理学家、生化学家和地質学家都感到广泛的兴趣。謝尔格·尼科拉耶維奇分析的問題和与微生物生命活动相关联的元素轉化有直接关系，这些問題使地球化学家，特别是 B. И. 維爾納德斯基很感兴趣。因此，C. H. 維諾格拉德斯基的工作对于土壤微生物学、海洋微生物学、地微生物学和

普通微生物学是同样有价值的。在杰出的微生物学家之中，除了維諾格拉德斯基以外，找不到一个研究者把微生物形态学的研究和它們生理的微妙特点的闡明这样和諧地結合起来。除了在硝化作用的研究方面氮碳收支平衡的极为困难的研究之外，这本书內还載有关于硫細菌和好气自生固氮菌的非常圓滿的資料。因此維諾格拉德斯基的工作可以做为形态和生理之間正确的相互关系的典范，在普通微生物研究中这是不可缺少的。这一結合后来时常被其他研究者所破坏而导致狹隘的、局限的、沒有特殊远景的純形态学的方向，因为和微生物的生态或实际应用相关联着的一切都是以其机能特性为基础的。另一方面，研究微生物的生命活动而完全不顧适应的意义，这些过程的研究就会带有非生物学的性质而把微生物細胞变为“酵素的口袋”。維諾格拉德斯基总是能够确定形态和生理的研究之間的正确的相互关系。

在現代生物学家之中，少有象 C. H. 維諾格拉德斯基那样，同样有根据的称为經典的研究者。他的論文风格、实验工作中的极大精确性，以及未被相应試驗所証实的工作中沒有假說，所有这些我们都是和我們关于經典研究者的观念完全和諧的。閱讀維氏論文的科学工作者要为他所应用的方法学的非常詳細的描述而惊讶。这种新方法学的“崇拜”使維諾格拉德斯基在其他研究者应用普通的手段不能解决所提出的課題的情况下，得到正确的答案。这就充分証明了一个普遍的原理：新的独創的方法学的途径会得出原則上是新的資料。用其中沒有伴随細菌发育的明胶小块接种得能分离出硝化菌的純培养，在微生物学研究实践中引入硅酸凝胶平板，应用染色的土壤标本研究土壤微生物区系——所有这些新的独創的方法学的手段可使人做出很重要的理論概括。

研究方法的革新——这是維諾格拉德斯基实验研究的最有代表性的特点之一。几乎在每个工作里都包含着早先沒有用过的方法的描述。有时建議把纖維素細菌不接种到滤紙上而接种在薄棉布上，因为这样更容易对于各种不同的細菌分解纖維素的強度得到一个概念。在旁的工作里建議在培养好气自生固氮菌的佩氏平碟的盖上放置冷水瓶，以便引起凝聚水滴的出現，然后在水滴內揭露氨。这些重要性不同，但总是独創的建議的数量是如此之大，以致描述它們就等于重复 C. H. 維諾格拉德斯基的每个研究所包含的讲述方法学的篇章。只有实验大师才能这样推敲、变化并創立研究微生物的手段。C. H. 維諾格拉德斯基的特点和力量就在于此，除了巴斯德之外，我們不知道有象 K. A. 季米里亚捷夫所描写的那样具有用虎头鉗控制自然的能力，并得到答案的微生物学家。C. H. 維諾格拉德斯基做为研究实验家的无可伦比的才能是他的杰出的发明的基础。他很注意他所用的方法学的手段要非常簡易，具