

Пров. 1971

ПРОВ 98

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
ИМ. А.О. КОВАЛЕВСКОГО
ОДЕССКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

ПРОВ 2010

БИОЛОГИЯ МОРЯ

Вып. 30

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ
СТРУКТУРЫ ЮЖНЫХ МОРЕЙ

РЕСПУБЛИКАНСКИЙ МЕЖВЕДОМСТВЕННЫЙ
СБОРНИК

ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКОВА ДУМКА»
КИЕВ—1973

ИНСТИТУТ
БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
ОДЕССА

Р ж а в с к а я Ф.М., А л е к с е е в а М.А. Метод определения неомыляемых веществ в жирах рыб и морских млекопитающих. - Рыбное хозяйство, 4, 1966.

Т о я м а , Т а к а г и . Жиры водных беспозвоночных. - РЖБ. № 74179, 1957.

B a r o n Cn., B o u t r y J.L. Etude biochemique des planctons. II Insaponifiables et sterols de plancton marin animal. - Bull. Chim. Biol., 49, 10, 1967.

M o o r e P.R., B a u m a n n C.A. Skin sterols. I. Colorimetric determination of cholesterol and other sterols in skin. - J. Biol. Chem., 195, 2, 1952.

N o m u r a T a d a s i et al. Sur les fractions insaponifiables des holothuries stichopus et Holoturia tubulosa. - Bull. Japan. Soc. Scient. Fish., 35, 3, 1969.

S e b r e e l W.N., H a r r i s R.S. The Vitamins, 2. N.Y., 1954.

V o o g t P.A. Investigation of the capacity of synthesizing 3 β -sterols in mollusc. IV. The biosynthesis of 3 β -sterols in some mesogastropods. - Compar. Biochem. a. Physiol., 31, I, 1968.

БАКТЕРИИ ВОДНОЙ ТОЛЩИ ЧЕРНОГО МОРЯ - ПРОДУЦЕНТЫ ВИТАМИНОВ ГРУППЫ В

А.С.Федянин

Из многочисленных литературных источников известно, что витамины группы В продуцируются бактериями, выделенными из различных мест обитания - почв, удобрений, морских водорослей и др. Имеются некоторые данные и о бактериях - продуцентах витаминов группы В, обитающих в морской воде.

Микроорганизмы являются важным звеном в пищевой цепи моря. Они служат пищей для различных простейших, которыми в свою очередь питаются водные многоклеточные. Морские бактерии, как источник витаминов, изучены недостаточно.

По данным отечественных и зарубежных авторов, способность к витаминобразованию выявлена у различных представителей микроорганизмов. Рядом авторов (Рубенчик и др., 1965) установлено, что микроорганизмы ризосферы пшеницы и кукурузы продуцируют различные витамины. Неспоровые бактерии из рода *Pseudomonas* способны образовывать биотин - до 0,223 мкг на 1 г сухих клеток, тиамин - до 45 мкг, витамин В₁₂ - до 49,3 мкг, никотиновую кислоту - до 92 мкг, пантотеновую кислоту - до 114 мкг. Эти витамины, за исключением тиамина и витамина В₁₂, обнаружены не только в бактериальных клетках, но и в средах, на которых выращивались бактерии. Этими авторами показано,

что накопление витаминов в культурах микроорганизмов зависит от возраста последних. А.Т.Супрунов и З.А.Муравская (1964) обнаружили в морской воде витамин B_{12} . В.П.Тульчинская, Н.И.Конonenko и Л.Л.Хитецкая (1966) выделили 234 штамма гетеротрофных бактерий с поверхности таллома и корней харовых водорослей Черного моря и 80 штаммов — из тела губок. Среди этой бактериальной флоры свыше 50% оказались способными продуцировать витамины группы В. Некоторые виды бактерий обладали способностью продуцировать несколько витаминов. Так, *Bacterium album* синтезировала пантотеновую, никотиновую кислоты и витамин B_{12} , а *Bacterium liquefaciens* — тиамин, пантотеновую кислоту и витамин B_{12} . О.А.Киришкин (1967) исследовал 27 культур морских дрожжей на способность синтезировать витамины группы В. Из них 17 оказались способными продуцировать пантотеновую кислоту. Биосинтез никотиновой кислоты осуществлялся всеми штаммами дрожжей. Самыми активными, по данным автора, были штаммы из рода *Rhodotocula* и *Debaryomyces*. А.Г.Бенжицкий (1970) исследовал прибрежный район Черного моря до 50 миль от берега в слое воды 0–100 м на присутствие витамина B_{12} . Оказалось, что содержание витамина B_{12} в воде колебалось в различных пределах, увеличиваясь по мере удаления от берега и возрастая с глубиной до 100 м. Этот же автор отмечает способность бактерий пищеварительных органов рыб к синтезу витамина B_{12} , причем наиболее активными синтетиками оказались *Bacterium halophilum* и *Bacillus oligonitrophilus*.

Объектом наших исследований были бактерии Черного моря и Хаджибейского лимана. Материал собирали в разных районах Черного моря и на различных глубинах водной толщи: на поверхности, с глубины 10, 25, 50, 100, 300, 500, 1000, 2000 м и в придонном слое. Во время экспедиции в восточной части Черного моря в феврале — марте 1968 г. было отобрано с 22 станций и посеяно на питательные среды в чашки Петри 56 проб воды (рис. 1). Выросшие колонии выделялись в чистые культуры в пробирки (всего — 350 штаммов бактерий).

В мае 1970 г. в восточной части Черного моря было отобрано с 64 горизонтов на 8 станциях 128 проб воды, из них выделено 220 штаммов бактерий. В августе — сентябре этого же года была организована экспедиция в юго-западную часть Черного моря. За время рейса отобрали для посева с 12 микробиологических станций 24 пробы воды. Из выросших колоний было выделено в чистые культуры 108 штаммов бактерий. В октябре из воды Хаджибейского лимана было выделено 24 штамма бактерий.

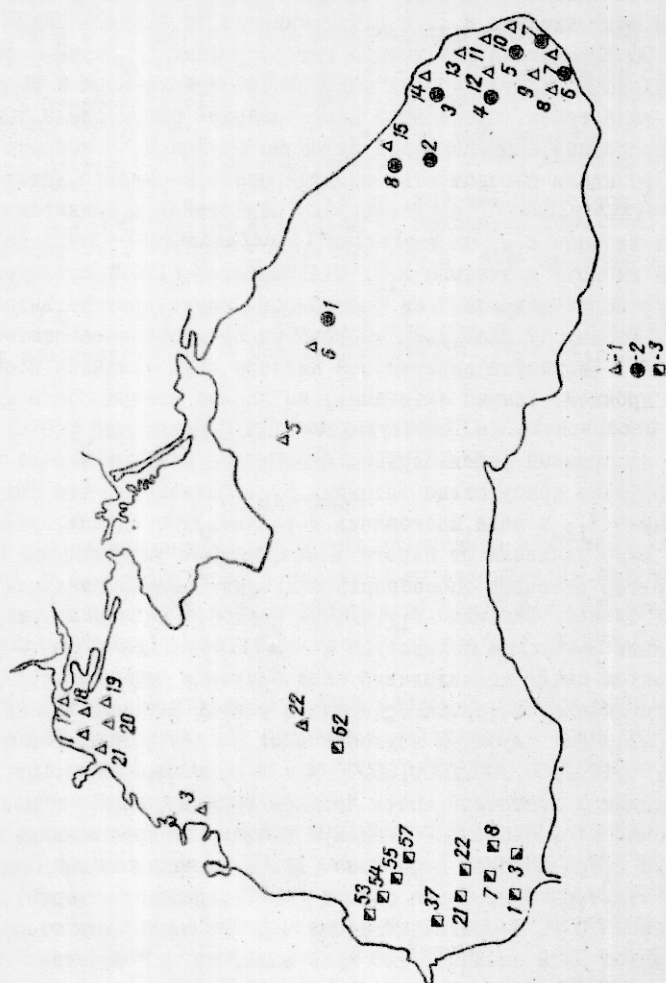


Рис. 1. Схема расположения микробиологических станций в экспедициях 1968 и 1970 гг.: 1 - февраль - март 1968 г.; 2 - май 1970 г.; 3 - август - сентябрь 1970 г.

Все выделенные бактерии проверялись на способность продуцировать витамины группы В: тиамин, пантотеновую и никотиновую кислоты, пиридоксин и витамин В₁₂. Для определения тиамина, пантотеновой и никотиновой кислоты, а также пиридоксина пользовались методикой, разработанной Е.Н.Одинцовой (1959). В качестве тесткультуры применяли: для определения тиамина - *Debaryomyces disporus*, пантотеновой кислоты - *Saccharomyces cerevisiae*, никотиновой кислоты - *Saccharomyces fragilis* 35I, пиридоксина - *Saccharomycodes Ludwigii* штамм КМ. Индикаторные культуры поддерживались на сусло-агаре, приготовленном из сусла (7⁰ Bal) с добавлением 2% агар-агара. Витамин В₁₂ определяли чашечным методом, разработанным Н.Д.Иерусалимским, И.В.Коновой, Н.М.Нероновой, А.И.Анчуровой (1961) и М.Г.Голышевой (см. "Методика определения концентрации витамина В₁₂ в чистых растворах и в культуральных жидкостях", 1958). В качестве тест-культуры использовали *Escherichia coli* -113-3, полученную из Института биохимии АН СССР им. А.И.Баха. Выраживали тест-культуру на лептонно-солевом агаре. Микробиологические методы основаны на ростовой реакции тест-микробов, высеванных на минеральную среду Ридер с сахарозой и введением в среду витаминов. Выделенные бактерии идентифицированы по определителю Н.А.Красильникова (1949) и Берджи (1934) с привлечением монографии А.Е.Крисса "Морская микробиология" (1959).

Выделенные бактерии обладали различной способностью синтезировать исследуемые витамины (рис. 2). Из 350 штаммов бактерий, выделенных в феврале - марте 1968 г., продуцентов тиамина оказалось 112 штаммов (30,3% всех выделенных бактерий), пантотеновой кислоты - 113 (30,5%), никотиновой кислоты - 118 (31,9%), пиридоксина - 128 (34,6%) и витамина В₁₂ - 219 штаммов (59,2%). Из выделенных в мае 1970 г. бактерий наибольшее количество продуцентов было выявлено по отношению к витамину В₁₂ (58,2%). И только 27% бактерий продуцировало пиридоксин. В августе - сентябре больше активных штаммов было по отношению к никотиновой кислоте (66,7%). Витамин В₁₂ продуцировали 55,9% всех выделенных бактерий. Незначительное количество штаммов продуцировало тиамин. Большой процент продуцентов витаминов группы В (87,5%) был обнаружен среди бактерий, выделенных в октябре из воды Хаджибейского лимана. Меньшее количество (29,2%) этих бактерий продуцировало тиамин.

Из всех штаммов бактерий, выделенных в экспедициях в море и лимане, видно, что наибольшее количество бактерий продуцировало

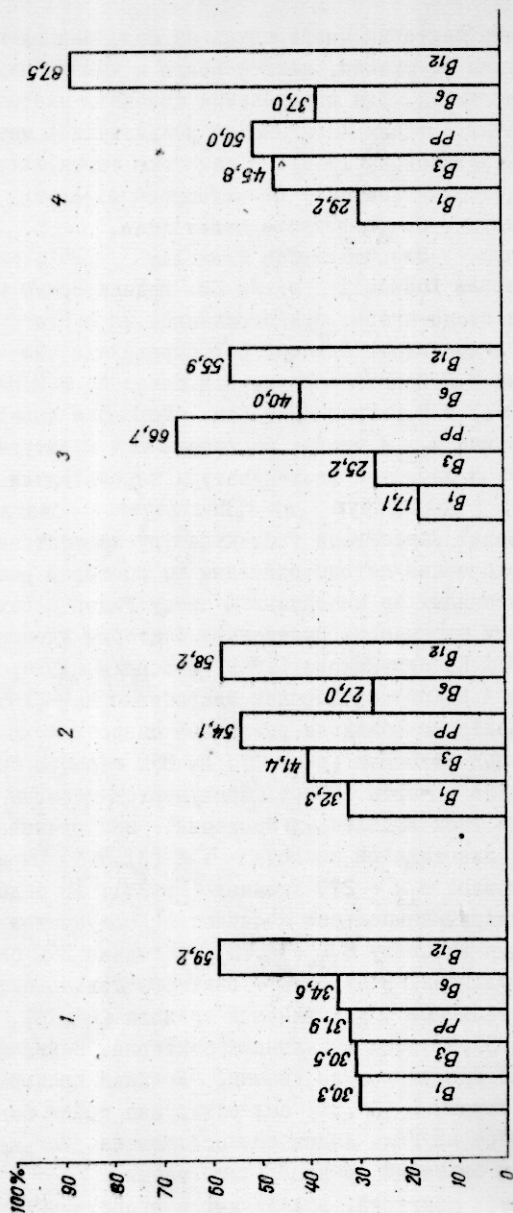


Рис. 2. Количество штаммов бактерий-продуцентов витаминов группы В (в % к общему числу исследованных штаммов): 1968 г. (море); 2 - май 1970 г. (море); 3 - август - 1 - февраль - март 1970 г. (Хаджибейский лиман). 4 - октябрь 1970 г. (море);

Образование витаминов группы В морскими и лиманными бактериями, мкг на 1 г сухих клеток

Микроорганизмы	В и т а м и н ы				
	тиа-	панто-	никоти-	пири-	ви-
	мин	теновая	новая	док-	та-
	:та	:кисло-	:кисло-	:син	:мин
					B ₁₂
Февраль - март 1968 г. (море)					
Bacterium ubiquatum	142	0	81	46	53
Bacterium albidum	88	49	215	46	0
Bacillus subtilis	16	0	311	68	51
Bacterium aurantius	22	36	410	33	0
Pseudomonas sinuosa	105	12	487	39	62
Pseudomonas pantotropha	0	13	399	71	69
Micrococcus tetragenus	21	32	412	71	0
Bacterium salius	114	17	484	59	78
Май 1970 г. (море)					
Micrococcus conglomeratus	360	0	220	7	11
Bacterium liquefaciens	19	5	109	0	3
Bacterium agile	10	0	27	14	7
Bacterium luteus	15	2	9	8	3
Bacterium mycoides	12	0	3	6	1
Pseudobacterium bifforme	4	1	12	0	2
Chromobacterium aquatile	13	8	97	16	6
Micrococcus albus	0	11	307	0	6
Август - сентябрь 1970 г. (море)					
Micrococcus aureus	0	0	211	0	5
Micrococcus aurantiacus	0	1	134	3	6
Micrococcus roseus	0	2	185	2	3
Micrococcus flavus	0	0	68	0	4
Bacterium candicans	0	0	7	12	6
Bacterium album	0	0	18	0	9
Bacterium mediosporus	0	0	144	1	7
Bacterium mesentericus	7	0	312	0	8
Bacterium mycoides	0	4	7	0	7
Pseudobacterium cocciformis	0	0	93	0	6
Pseudobacterium qualis	0	0	73	0	3
Октябрь 1970 г. (Хаджибейский лиман)					
Bacterium viscosus lactis	0	0	92	8	18
Bacterium album	0	0	106	0	5
Bacterium aerophilum	0	0	78	0	12
Bacterium liquefaciens	0	10	318	0	0
Bacterium guttatum	0	2	104	9	18
Bacterium mediosporus	10	0	322	0	17
Micrococcus tetragenus albus	13	4	301	0	4
Micrococcus radiatus	3	0	12	0	9
Micrococcus candidus	0	0	214	0	6
Pseudobacterium furcosum	0	0	0	2	2

витамины B_{12} . Значительное количество бактерий продуцировало никотиновую кислоту. Сравнительная характеристика морских и лиманных бактерий свидетельствует о том, что большее количество бактерий - продуцентов витамина B_{12} обнаруживалось среди бактерий лимана (87,5%), никотиновой кислоты - среди морских бактерий, особенно в августе - сентябре 1970 г. (66,7%).

Бактерии, образующие витамины, обнаружены нами на различных глубинах Черного моря от поверхности до придонного слоя. Большее их количество встречалось на глубине до 50 м. Бактерии, выделенные из юго-западной части Черного моря, были более активны к образованию никотиновой кислоты и витамина B_{12} . Наибольшее количество образователей витаминов было обнаружено у входа в Днепровский лиман, в юго-восточной циркуляции, в районе Фиевского гидрофронта и западной халистазы. На станции № 19 (см. рис. 1) образователей тиамин было 67% общего числа выделенных на этой станции бактерий, продуцентов пантотеновой кислоты - 56%, никотиновой кислоты - 67%, пиридоксина - 67%, витамина B_{12} - 56%; на станции № 14 - соответственно 45, 39, 70, 67 и 67%; на станции № 15 - 33, 70, 87, 67, 67%. Лучшие штаммы витаминообразователей представлены в таблице.

Как видно из приведенных данных, некоторые бактерии способны продуцировать все исследуемые нами витамины. Так, культура *Bacillus subtilis* продуцировала тиамин в количестве 114 мкг на 1 г сухих клеток, пантотеновую кислоту - 17 мкг, никотиновую кислоту - 484 мкг, пиридоксин - 59 мкг, витамин B_{12} - 78 мкг. *Bacillus goniosporus* продуцировала: тиамин - 123 мкг, пантотеновую кислоту - 17 мкг, никотиновую кислоту - 467 мкг, пиридоксин - 49 мкг, витамин B_{12} - 14 мкг. Наиболее активные продуценты тиамина встречались среди рода *Bacterium*. Так, *Bacterium ubiquatum* синтезировала тиамин в количестве 142 мкг на 1 г сухих клеток, никотиновую кислоту - 81 мкг, пиридоксин - 46 мкг, витамин B_{12} - 53 мкг. *Pseudomonas sinuosa* продуцировала все пять исследуемых нами витаминов. Эта культура синтезировала наибольшее количество никотиновой кислоты - 487 мкг на 1 г сухих клеток, а также тиамин - 105 мкг, пантотеновую кислоту - 12 мкг, пиридоксин - 39 мкг и витамин B_{12} - 62 мкг.

Выводы

1. Из 702 штаммов бактерий, выделенных из воды разных районов и различных глубин моря, 17 - 87% их обладают способностью продуци-

ровать витамины группы В: тиамин, пантотеновую и никотиновую кислоты, пиридоксин и витамин В₁₂.

2. Бактерии - продуценты витаминов встречались на различных глубинах от поверхности до придонного слоя. Наибольшее количество их было на глубине до 50 м.

3. Распространение бактерий и их активность в биосинтезе витаминов взаимосвязаны. Выделенные культуры бактерий обладают неодинаковой активностью витаминообразования. Штаммы одного и того же вида синтезируют различное количество витаминов.

4. Наибольшее число бактерий-продуцентов было выявлено по отношению к витамину В₁₂.

5. Некоторые культуры бактерий, например *Bacillus salius*, *Pseudomonas sinuosa*, *Bacterium halophilum*, *Micrococcus candidus*, обладают способностью синтезировать все пять исследуемых витаминов.

Литература

- Б е р д ж и. Определитель микробов. Изд-во АН СССР. М., 1934.
- Б е н ж и ц к и й А.Г. Витамин В₁₂ в воде и организмах Черного моря. Автореф. канд. дисс. Одесса, 1970.
- Г о л ы ш е в а М.Г. Методика определения концентрации витамина В₁₂ в чистых растворах и культуральных жидкостях. М., 1958.
- И е р у с а л и м с к и й Н.Д., К о н о в а И.В., А е р о - н о в а Н.М., А н ч у р о в а А.И. Определение витамина В₁₂ биоавтографическим способом. - В кн.: Витаминные ресурсы и их использование, сб.5.М., 1961.
- К р а с и л ь н и к о в Н.А. Определитель бактерий и актиномицетов. М., 1949.
- К и р ь ш к и н О.А. Биосинтез пантотеновой и никотиновой кислот морскими дрожжами. - В кн.: XIII отчетная конференция биологического и географического факультетов Одесского госуниверситета. Одесса, 1967.
- О д и н ц о в а Е.Н. Микробиологические методы определения витаминов. АН СССР, М., 1959.
- Р у б е н ч и к Л.И., С м а л и й В.Т., З и н о в ь е - в а Х.Т., Б е р ш о в а О.И. Образование витаминов микроорганизмами ризосферы сельскохозяйственных растений. - В кн.: Роль микроорганизмов в питании растений и повышении эффективности удобрений. "Колос", Л., 1965.
- С у п р у н о в А.Т., М у р а в с к а я З.А. О содержании витамина В₁₂ в воде Севастопольской бухты и его возможном экологическом значении. - Тр. Севаст. биол. ст., 17, 1964.
- Т у л ь ч и н с к а я В.П., К о н о н е н к о Н.И., Ж и т е ц - к а я Л.Л. Микрофлора морских водорослей и губок как источник биологически активных веществ (антибиотиков, витаминов, ферментов, аминокислот). - В кн.: IX Международный конгресс по микробиологии. М., 1966.