

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

ПРОВ 2010

ПРОВ. 98

ПРОВ 98

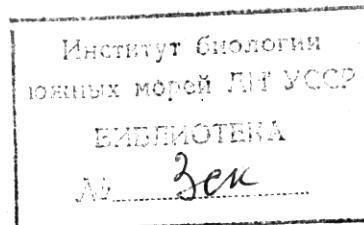
# БИОЛОГИЯ МОРЯ

РЕСПУБЛИКАНСКИЙ  
МЕЖВЕДОМСТВЕННЫЙ СБОРНИК

Основан в 1965 г.

*Выпуск 48*

ДОННЫЕ СООБЩЕСТВА  
И МОРСКИЕ ОБРАСТАНИЯ



КИЕВ «НАУКОВА ДУМКА» 1979

изучаемые параметры почти не зависели друг от друга. В 1973 г. на корреляцию pH воды и pH СПМ ( $r_{12}$ ) оказывал слабое влияние pH взвеси (3). Корреляция pH воды и pH взвеси ( $r_{13}$ ) также почти не зависела от pH СПМ [2]. Корреляция pH СПМ и pH взвеси ( $r_{23}$ ) осуществлялась значениями pH морской воды (1), а при ее исключении связь  $r_{23}$  терялась. Следовательно, можно предположить, что pH морской воды в данный период наблюдений был определяющим параметром во взаимосвязи трех рассматриваемых параметров.

Таким образом, в итоге шестилетних наблюдений в большинстве случаев установлено взаимовлияние величины pH. Есть все основания считать, что от pH метаболитов СПМ и, может быть, немного больше от pH взвеси в значительной мере зависит pH морской воды Севастопольской бухты. Это влияние определяется наличием значительного количества твердого субстрата и благоприятных условий для образования взвеси, так как на взвеси и на поверхности предметов обильно развиваются морские микроорганизмы, влияющие посредством своих метаболитов на изменение pH воды в бухте.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексин О. А. Химия океана. Л., Гидрометеоиздат, 1966. 72 с.
2. Горбенко Ю. А. Экология морских микроорганизмов перифитона. К., Наук. думка, 1977. 250 с.
3. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. Минск, Вышешшая школа, 1967. 175 с.

Институт биологии южных морей  
им. А. О. Ковалевского АН УССР

Поступила в редакцию  
05.05.77

Ju. A. G o r b e n k o

#### ON INTERRELATION OF SEA WATER pH WITH METABOLITES OF PERIPHYTON MICROORGANISMS AND MARINE SUSPENSION

##### S u m m a r y

Microorganisms developing on the suspension surface and on the objects of natural and artificial origin submerged into the sea affect the water pH value in the Sevastopol bay. All the mentioned pH parameters in the sea are usually interrelated.

УДК 576.8.597.08(26)

Ю. А. Горбенко, А. Г. Бенжицкий

#### О ПРОДУЦИРОВАНИИ ВИТАМИНА В<sub>12</sub> В МОРЕ ПЕРИФИТОННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Основными продуцентами витамина В<sub>12</sub> считаются бактерии и актиномицеты — обитатели морской воды и талломов макрофитов [11, 13]. Их роль как донаторов кобаламина в трофике водоемов очень велика [6].

В Черном море, судя по литературным данным, продуценты витамина В<sub>12</sub> располагаются на различных глубинах от поверхности до дна. Об этом свидетельствует работа А. С. Федянина [9], который проверил экспериментально биосинтетическую активность 702 штаммов бактерий, выделенных из черноморской воды. При этом максимальные значения биосинтеза В<sub>12</sub> отмечены в поверхностных слоях кислородной и сероводородной зон Черного моря [4].

В зависимости от сезона активность биосинтеза бактериальных

культур изменяется. Зимой продукция витамина  $B_{12}$  составляет десятые доли нанограмма, а весной и осенью возрастает до целых нанограмма. Из 58 видов бактерий — производителей кобаламинов — 28% отнесены к роду *Bacterium*, 21,1 — *Pseudomonas*, 17,8 — *Micrococcus*, 11,8 — *Chromobacterium*, 6,7 — *Sarcina*, 2,6 — *Bacillus* и 0,8% — к роду *Planococcus* [5, 7].

При оценке значения биосинтетической деятельности бактерий первостепенное значение приобретают исследования их активности в природных сообществах. Если чистые бактериальные культуры не все обладают способностью к биосинтезу или преимущественно малоактивны, то бактерии в сообществах проявляют биосинтетическую активность всегда. Кроме того, в естественных популяциях они синтезируют кобаламины в больших количествах, чем в лабораторных экспериментах [12].

Целью настоящей работы было выяснение возможности продуцирования витамина  $B_{12}$  сообществом перифитонных микроорганизмов (СПМ), экология которых в ряде аспектов изучена [1, 2].

### Методика

Выбрав для наблюдений зимние месяцы, когда процессы жизнедеятельности СПМ замедлены и условия для образования кобаламина неблагоприятны\* (ноябрь, декабрь, январь и февраль 1965, 1967 и 1968 гг.), мы погружали серию стеклянных пластин (каждая размером 9×9 см) у подводного стендса Севастопольской бухты. Через 2, 7, 8, 16, 22, 24, 29 и 31 сутки пластины с развивающейся на их поверхности слизистой пленкой СПМ извлекали из морской воды и по 4 штуки погружали в 2 сосуда (I и II повторности) для двухчасового взаимодействия с водой, взятой у места погружения пластин. В третий сосуд наливали только воду, и он служил контролем. Затем воду из сосудов фотометрировали в ультрафиолетовом свете в диапазоне 210—300 нм по экстинкции ( $E$ ) против концентрации растворенных органических веществ (РОВ) в контроле [10], получая значение трансформированного РОВ ( $POB_{transf}$ ), которое отражает интенсивность жизнедеятельности СПМ. Средние значения  $POB_{transf}$  на волне 260 нм ( $E_{260}$ ) показаны в табл. 1.

Таблица 1

Изменение количества  $POB_{transf}$  СПМ (по  $E_{260}$ ) и содержание витамина  $B_{12}$  (нг/мл) в метаболитах СПМ и в морской воде

Дата	$POB_{transf}$	Витамин $B_{12}$		Дата	$POB_{transf}$	Витамин $B_{12}$	
		в море	в метаболитах СПМ			в море	в метаболитах СПМ
16.12.65	0,037	0,55	0,55	22.01.68	0	1,42	1,42
24.11.67	—	0,77	—	31.01.68	0,047	0,35	1,77
	0,053	0,86	0,86		0,045	0,41	0,41
2.12.67	0,103	1,26	1,26	2.02.68	0,087	0,19	1,21
	0,075	0,51	0,51		0,044	Следы	»
7.12.67	0,070	0,31	—	16.02.68	0,038	Следы	»
	0	0,25	Следы		0	Следы	Следы
8.01.68	0,050	0,88	0,88	29.02.68	0	0,09	0,09
	0,042	0,30	Следы		0,071	0,02	0,11
		»	»		0,068		

\* Предполагалось, что если в неблагоприятных условиях образуется витамин, то в благоприятных он должен образоваться обязательно.

Сразу после регистрации РОВ во всех пробах определяли содержание витамина  $B_{12}$  микробиологическим методом. В качестве индикаторного организма использовали мутант кишечной палочки *Escherichia coli* 113-3. При этом для экстракции витамина  $B_{12}$  и снижения солености воды до уровня, не угнетающего рост организма-индикатора, применяли модификацию методики, описанной в работе [8]. Анализ осуществляли пробирочным способом [3].

## Результаты

Одновременно проведено 19 наблюдений за изменением содержания РОВ<sub>трансф</sub>, 18 определений содержания витамина  $B_{12}$  в метаболитах СПМ и 10 — в окружающей морской воде (табл. 1). В четырех определениях в метаболитах СПМ зафиксировано потребление \* витамина  $B_{12}$ , еще в двух случаях содержание витамина как в перифитоне, так и в море было равно нулю, в остальных 10 случаях наблюдалось выделение кобаламина. Эти данные позволили предположить, что СПМ является продуцентом витамина  $B_{12}$ . В результате обработки наблюдений методом корреляционного анализа обнаружено несколько корреляционных связей (табл. 2) \*\*. Корреляция значений РОВ<sub>трансф</sub> с количеством витамина  $B_{12}$  в метаболитах СПМ свидетельствовала о том, что от изменения интенсивности жизнедеятельности сообщества зависели колебания в содержании  $B_{12}$ . Отсюда, очевидно, метаболические процессы СПМ в определенной мере обусловливали продуцирование кобаламина микроорганизмами. Тесные корреляционные связи концентрации  $B_{12}$  в морской воде и метаболитах СПМ (I и II повторности) свидетельствовали о связи между этими тремя величинами (табл. 2).

Обнаруженным корреляциям можно дать два противоположных объяснения: 1) содержание кобаламина в море определяет и регулирует его образование в СПМ и 2) продуцирование  $B_{12}$  микроорганизмами СПМ определяет изменение колебаний его содержания в море.

Используя корреляцию концентраций витамина  $B_{12}$  в море с I и II повторностями метаболитов СПМ, мы рассчитывали частные корреля-

Таблица 2

### Корреляционные связи содержания витамина $B_{12}$ в морской воде, в метаболитах СПМ и РОВ<sub>трансф</sub> СПМ

Корреляция	Содержание $B_{12}$			Корреляция $B_{12}$ в метаболитах СПМ и РОВ <sub>трансф</sub>
	В море (1)	В I повторности метаболитов (2)	Во II повторности метаболитов (3)	
Обычная	$r_{12} = 0,788$ $n = 10$	$r_{13} = 0,720$ $n = 8$	$r_{23} = 0,810$ $n = 8$	$r = 0,470$ $n = 18$
Частная	$r_{12 \cdot 3} = 0,502$	$r_{13 \cdot 2} = 0,227$	$r_{23 \cdot 1} = 0,569$	—

ции между этими тремя компонентами, для того чтобы выяснить, какое из двух указанных выше объяснений правомочно (табл. 2).

Результаты вычислений показали, что все изучаемые параметры взаимосвязаны. Подтверждением служит тот факт, что элиминация (или исключение) одного из этих параметров уменьшает корреляцию

\* В том случае, когда в метаболитах СПМ концентрация витамина  $B_{12}$  превышала концентрацию его в морской воде, мы условно считали, что кобаламин выделяется микроорганизмами. В случае, когда концентрация его в метаболитах оказывалась меньше, чем в море, предполагали, что происходит потребление витамина.

\*\* Наблюдения, классифицированные как «следы витамина  $B_{12}$ » (табл. 1), в расчетах приняты за нуль.

двух остальных. Вместе с тем оказалось, что если исключить из рассмотрения содержание  $B_{12}$  во II повторности метаболитов СПМ, то корреляция двух оставшихся параметров уменьшается на 0,286. Элиминация  $B_{12}$  в I повторности метаболитов сильно (на 0,483) ослабляет корреляционную связь двух остальных параметров, делая ее слабой, в то время как исключение концентрации  $B_{12}$  в море уменьшает корреляцию оставшихся двух параметров на 0,231, т. е. на самую меньшую величину. Данный факт свидетельствует о том, что в рассматриваемой взаимосвязи наибольшее значение имеет концентрация  $B_{12}$  в I повторности метаболитов СПМ.

На основании проведенных исследований оказалось справедливым наше объяснение [2]. Можно считать, что витамин  $B_{12}$ , обнаруживаемый в воде Севастопольской бухты зимой от следовых количеств до 1,77 нг/мл, в основном продуцируется СПМ, развивающимся на поверхности предметов, находящихся в морской воде. Очевидно, именно микроорганизмы, по крайней мере в зимнее время, являются одним из основных продуцентов витамина  $B_{12}$  в Севастопольской бухте, где количество погруженных предметов искусственного и естественного происхождения, служащих субстратом для микроорганизмов, велико.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Горбенко Ю. А. Экология перифитонных микроорганизмов. Автореф. дис. докт. биол. наук. Киев, 1973. 45 с.
2. Горбенко Ю. А. Микроорганизмы.— В кн.: Биологические основы борьбы с обрастанием. Киев, Наук. думка, 1973. 27 с.
3. Кущева Л. С. Микробиологические методы определения витамина  $B_{12}$ .— В кн.: Витаминные ресурсы и их использование. Т. 5. М., Изд-во АН СССР, 1961, с. 133—144.
4. Лебедева М. Н., Гутвейб Л. Г. Синтез соединений кобаламиновой природы бактериальных сообществ Черного моря.— В кн.: Экспедиционные исследования в Средиземном и Черном морях в ноябре—декабре 1971 г. Киев, Наук. думка, 1975, с. 126—133.
5. Нижегородова Л. Е. Бактерии — антагонисты и продуценты витамина  $B_{12}$  в илах р. Дунай и предустьевого взморья. Автореф. канд. дис. Киев, 1967. 25 с.
6. Родина А. Г. Кормовое значение и строение детрина.— В кн.: Биологические ресурсы водоемов, пути их реконструкции и использования. М., Наука, 1966, с. 35—41.
7. Сурьянова Е. И. Бактериальная флора некоторых беспозвоночных Черного моря (прибрежных районов) и ее биологические свойства (биосинтез витамина  $B_{12}$ , антагонизм, ростовый эффект). Автореф. канд. дис. Киев, 1965. 25 с.
8. Супрунов А. Т., Муравская З. А. О методике определения витамина  $B_{12}$  в воде Севастопольской бухты.— Тр. Севастоп. биол. станции, 1964, 17, с. 463—466.
9. Федянин А. С. Бактерии водной толщи Черного моря — продуценты витаминов группы В.— Биология моря, Киев, 1973, вып. 30, с. 90—97.
10. Хайлор К. М., Горбенко Ю. А. Об участии сообществ перифитонных микроорганизмов в экологическом метаболизме в море (методы исследования внешнего метаболизма перифитона).— Океанология, 1967, 7, № 4, с. 718—727.
11. Burkholder P. R. Vitamin — producing bacteria in the sea.— Inter. Oceanogr. Congr.— In: Preprints AAAS. Washington, 1959, p. 912—913.
12. Gutveib L. G., Bengeitsky A. G., Lebedeva M. N. Synthesis of biologically active substances in  $B_{12}$  vitamin groups of the bacterioneuston of the tropical Atlantic.— In: Atti 5° Coll internationale oceanografia medica Messina. Ed. S. Genovese. Messina, Editrice Libraria Banazinga, 1973, p. 161—175.
13. Starr T. J., Jones N. E., Mariner D. The production of vitamin  $B_{12}$  active substances by marine bacteria.— Limnol. and Oceanogr., 1957, 2, N 2, p. 114—119.

Институт биологии южных морей  
им. А. О. Ковалевского АН УССР

Поступила в редакцию  
08.05.77

Ju. A. Gorbenko, A. G. Benzhitskij

#### ON VITAMIN $B_{12}$ PRODUCTION IN THE SEA BY PERIPHYTON MICROORGANISMS

#### Summary

Periphyton microorganisms in vitamin  $B_{12}$  produce the process of vital activity. The vitamin excreted into the surrounding water affects the  $B_{12}$  content in the bay water, at least in winter.