

Пров. 1981

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
ОДЕССКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

Из литературных данных известно, что витамин В₁₂ содержится в различных природных источниках. Имеется витамин В₁₂ и в растворенном виде в пресных и соленых водоемах. Впервые он был обнаружен в пресном водоеме американскими учеными Роббинсом, Херви и Стеббинсом (Robbins, Hervey, Stebbins, 1950). Позже Про-васоли и Пинтнер (Provasoli, Pintner, 1953) обнаружили его в морской воде (до 0,2 мкг в 1 л воды). Друп (Droop, 1955) исследовал содержание витамина В₁₂ в воде Атлантического океана. Годом позже Ковей (Coweу, 1956) сообщил, что в открытых водах Атлантики содержание витамина В₁₂ колеблется в зоопланктоне от 0,06 до 0,09 мкг, а в фитопланктоне — в пределах 0,02 — 0,03 мкг/г сырого вещества. А.Т.Супрунов и З.А.Муравская (1964) обнаружили в воде Черного моря витамин В₁₂.

Помимо бактерий одним из источников витамина В₁₂ в воде являются водоросли (Provasoli, 1960). В сообщении Эриксона и Лависа (Ericson, Lewis, 1953) отмечена способность накапливать витамин В₁₂ зелеными водорослями (до 0,35 мкг/г сухого вещества), красными (до 0,25 мкг/г), а также в незначительном количестве и бурными водорослями. В красных водорослях Черного моря витамин В₁₂ накапливается в большом количестве — до 0,92 мкг/г сухого вещества (Емануилов, Начев, Велчева, Даов, 1960). По данным А.К.Мигаль (1967), в красной водоросли Черного моря *Phyllophora peguosa* содержание витамина В₁₂ колебалось от 3,77 до 4,94 мкг/г. Красные водоросли богаче кобаламином, чем бурые. *Anabaena cylindrica*, например, содержит 63-110 мкг витамина В₁₂ на 100 г сухого вещества (Brown, Cuthbertson Fogg, 1956), *Microcystis* sp. накапливает до 12,3 мкг витамина В₁₂ (Nashimoto, 1954), *Plectonema nostocum* — 6-7 мкг/г сухого вещества (Robbins, 1951), а *Calothrix parietina* содержит 64 мкг на 100 г сухого вещества, *Aphanizomenon flos aquae* — 28 мкг, *Diplocystis aeruginosa* — 24 мкг на 100 г сухого вещества (Смирнов, 1959). А.Г.Бенжицкий (1970) приводит данные по содержанию витамина В₁₂ в морской воде и отмечает, что по мере удаления от берега содержание его повышается. Подобное явление наблюдается и при увеличении глубины взятия проб воды: содержание витамина В₁₂ возрастает до глубины 100 м. Автором обнаружен витамин В₁₂ и в массовых видах фито-

планктона и зоопланктона Черного моря, причем содержание его у одних и тех же видов изменяется в различные месяцы вылова планктона в море. Более четкие изменения отмечены у водорослей *Chaetoceros curvisetus*, *Prorocentrum micans*. Менее выражены они у *Pontosphaera huxlegii*. У *Chaetoceros curvisetus* больше накапливалось витамина в сентябре (0,20 мкг/г сырого вещества) и меньше - в январе (0,07 мкг/г сырого вещества). Установлена зависимость накопления витамина B_{12} от интенсивности развития ауко-сотрофных водорослей.

Нами исследовалось содержание витамина B_{12} в планктоне, собранном у берегов юго-западной части Черного моря. Определения проводились чашечным методом, описанным Н.Д.Иерусалимским, И.В.Коно-вой, Н.М.Нероновой, А.И.Анчуровой (1961) и в "Методике определения концентрации витамина B_{12} в чистых растворах и культуральных жидкостях" (1958). В качестве индикатора использовалась тест-культура *E.coli*-113-3, полученная из Института биохимии АН СССР им.А.Н.Ба-ха. Этот штамм обладает чувствительностью как к кобаламину, так и некоторым его аналогам. Выращивали тест-культуру на пептонно-солевом агаре. Штамм хранился в холодильнике и пересевался один раз в неделю. Среда стерилизовалась в течение 20 минут при 1 атм. В среду вносили 40%-ный раствор глюкозы из расчета 2,5 мл на 100 мл среды, охлаждали до 45-48°C, в стерильных условиях добавляли взвесь культуры (2-3 мл), содержащей порядка 1 млрд. клеток в 1 мл *E.coli*-113-3 и разливали в чашки Петри по 20 мл в каждую.

Для разрушения белково-витаминного комплекса и освобождения витамина навеску исследуемого планктона автоклавировали в течение 10 минут при 1 атм, предварительно подкислив 1н. соляной кислотой до pH 4,5-5,0. Для стабилизации витамина в исследуемый материал перед автоклавированием добавляли 5%-ный раствор нитрита натрия.

В зараженной стерильно культурой *E. coli*-113-3 и застывшей в чашках Петри среде делали по трафарету цилиндрики. В два из них вносили по 0,1 мл стандартные растворы витамина B_{12} , содержащие 0,2 мкг и 0,05 мкг в 1 мл витамина B_{12} . В два других вносили по 0,1 мл исследуемых растворов, в следующие два - по 0,1 мл этих же растворов, разведенных в 4 раза. Чашки с посевами помещали в термостат при температуре 37°C на 20-24 часа. Образующие вокруг цилиндриков зоны роста *E.coli*-113-3 замеряли. По таблице для количественного расчета витаминов и антибиотиков находили процент-

ное содержание витамина B_{12} и по формуле определяли содержание витамина B_{12} в 1 мл исследуемого раствора.

В таблице приведены средние данные из трех повторностей постановки опыта на содержание витамина B_{12} в планктоне для каждой станции. Наибольшее содержание витамина B_{12} обнаружено в планктоне, собранном на ст. № 7, где планктон состоял в основном из *larvae Lamellibranchiata*. В 1 г навески сырого вещества его обнаружено 0,218 мкг витамина B_{12} . В планктоне, собранном на ст. № 57 (с преобладанием до 65% *larvae Lamellibranchiata*) содержание витамина B_{12} было 0,030 мкг на 1 г сырого вещества. На ст. № 1, 21 и 62 в навеске доминирующими были также *larvae Lamellibranchiata*. Содержание витамина B_{12} в навесках было соответственно 0,050, 0,060 и 0,030 мкг/г сырого вещества.

На ст. № 3 были отобраны две навески. Доминирующим была, как и на ст. № 8, *Pantella mediterranea*. Содержание витамина B_{12} в исследуемых навесках этих станций отличалось незначительной раз-

Содержание витамина B_{12} в поверхностном (0-50 см) планктоне Черного моря в 1970 г., мкг/г сырого вещества

Видовой состав пробы	Номер : стан- : ции	Вита- : мин : B_{12}
<i>Larvae Lamellibranchiata</i>	1	0,050
<i>Pantella mediterranea</i>	3	0,110
<i>Pantella mediterranea</i>	3	0,096
<i>Larvae Lamellibranchiata</i>	7	0,218
<i>Pantella mediterranea</i>	8	0,141
<i>Larvae Lamellibranchiata</i>	21	0,060
<i>Cucumaria orientalis</i>	22	следы
<i>Amphiuira stepanovi</i>	37	0,032
<i>Penilia avirostris</i> + <i>Evadne spinifera</i>	53	0,020
Copepoda (65%) + <i>Ceratium tripos</i> (35%)	54	0,046
Copepoda (35%) + <i>Penilia avirostris</i> (35%)	55	0,120
<i>Larvae Lamellibranchiata</i> (65%)	57	0,080
<i>Larvae Lamellibranchiata</i>	62	0,030

ницей и составляло соответственно 0,110, 0,096 и 0,141 мкг/г сырого вещества. Меньше витамина B_{12} было в планктоне, собранном на ст. № 53 (0,020 мкг/г), где преобладали *Penilia avirostris* + *Evadne spinifera*. В гидролизате, полученном из голотурий *Cucumaria orientalis*, количество витамина B_{12} было минимальным. Показано, что содержание витамина B_{12} в планктоне зависит от преобладания в нем определенной группы организмов.

Литература

Б е н ж и ц к и й А. Г. Витамин B_{12} в воде и организмах Черного моря. Автореф. канд. дисс. Одесса, 1970.

Емануилов И., Начев Л., Велчева П.,
Данов Г. Витамин В₁₂ в черноморских водорослях. Болгария,
1960.

Иерусалимский Н.Д., Копцова И.В., Неро-
нова Н.М., Анчурова А.И. Определение витамина В₁₂ био-
автографическим способом. - В кн.: Витаминные ресурсы и их
использование, сб. 5, 1961.

Мигаль О.К. До вивчення вітаміну В₁₂ у безхребетних
Чорного моря (мідії та креветки). - Укр. біох. журн., 35, 2, 1963.

Мигаль А.К. Витамин В₁₂ в беспозвоночных северо-запад-
ной части Черного моря. - В кн.: Биохимия морских организмов. "Нау-
кова думка", К., 1967.

Смирнов Н.Н. Растворенные витамины и их значение для
водных организмов. - Бюллетень Института биологии водохранилищ, № 4,
1959.

Супрунов А.Т., Муравская В.А. О содержании
витамина В₁₂ в воде Севастопольской бухты и его возможном экологи-
ческом значении. - Тр. Севаст. биол. ст., 17, 1964.

Методика определения концентрации витамина В₁₂ в чистых раст-
ворах и культуральных жидкостях, 1958.

Brown F., Cutler F., Fogg. Vitamin В₁₂ ac-
tivity of *Chlorella* Leam. - Nature, 177, 500, 1956.

Cowey C.B. A preliminary investigation of the variation
of vitamin В₁₂ in oceanic and coastal waters. - J. of the Ma-
rine Biological Association of the United Kingdom, 35, 3, 1956.

Dröop M.R. A suggested method for the assay of vitamin
В₁₂ in sea-water. - J. of the Marine Biological Association of
the United Kingdom, 34, 3, 1955.

Ericson L.E., Lewis L. On the occurrence of vi-
tamin В₁₂ factor in marine algae. - Archiv, 6, 1953.

Hasebimoto V. Vitamin В₁₂ in marine and freshwater
algae. - J. Vitamology, 1, 1954.

Provassoli L., Pinner J. Assay of vitamin
В₁₂ in sea-water. - Proc. Soc. Protozool., 4, 1953.

Provassoli L. Growth factors in unicellular marine
algae. Perspectives in marine biology University of California
press Berkeley and Los Angeles, 1960.

Robbins W.J., Hervey A., Stebbins M.E.
Studies on *Euglena* and vitamin В₁₂. - Bull. of the Torrey
Botanical Club, 77, 6, 1950.

Bossin W.J. Further observations on *Euglena* and
В₁₂. - Bull. of the Torrey Botanical Club, 78, 1951.

ВИТАМИН В₁₂ ВО ВНУТРЕННИХ ОРГАНАХ РЫБ ЧЕРНОГО МОРЯ

А.Г. Бенжикский

В настоящее время в числе актуальных проблем экологической
биохимии морских организмов важное место занимают вопросы, связан-
ные с изучением происхождения, содержания и трансформации витами-
нов, в частности кобаламинов (витамина В₁₂ и его природных анало-
гов), на различных трофических уровнях (Виноградова, 1968а, б; 1969).