

Гидробиологический журнал

ОРГАН ОТДЕЛЕНИЯ ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ
АКАДЕМИИ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ТОМ II 1966 № 4

СОДЕРЖАНИЕ

Вотинцев К. К., Поповская Г. И. О первичной продукции Байкальского фитопланктона	3
Галковская Г. А., Ляхнович В. П. Продукция прудового зоопланктона. Сообщение I	8
Гусынская С. Л. Формирование биоценологических комплексов зоопланктона в Кременчугском водохранилище	16
Покровская Т. Н. К исследованиям донной фауны западных ильменей волжской дельты	25
Дедю И. И. Значение амфипод и мизид в питании рыб водоемов Молдавии.	32
Лукьяненко В. И. Об антителообразовательной функции рыб и влиянии антигенного раздражителя на гуморальные факторы естественного иммунитета.	38
Короткевич Г. Г. Некоторые итоги применения индивидуального метода изучения хозяйственно-ценных показателей прудового карпа.	47

Краткие сообщения

Федий В. А. Влияние сточных вод пищевой промышленности на фитопланктон Самарского залива Днепровского водохранилища.	55
Балашов Л. С. Высшая водная растительность р. Снов и водоемов ее поймы.	56
Ивасик В. М., Сулягин В. С. О паразитофауне форели и карпа в прудах Закарпатья	59
Зуев Г. В. О таксономии кальмаров рода <i>Illex Steenstrup</i> .	63 - 67 ✓
Степанюк И. А. Сравнительно-биохимическая характеристика аминокислотного состава донных беспозвоночных Черного моря.	67
Смирнова Л. И. Сезонные изменения лейкоцитарного состава крови леща и окуня	71
Кузьмина В. В. Электрофоретическое изучение белков сыворотки крови рыб при длительном голодании	74
Кудринская О. И. Суточный ритм питания молоди леща, густеры и красноперки	78

Обзоры

Горюнова С. В. Прижизненные выделения водорослей, их физиологическая роль и влияние на общий режим водоемов.	80
--	----

Методика

Лебедева М. Н., Анищенко Э. Я. Допустимо ли применение батометров Нансена для количественных микробиологических исследований.	89 ✓
Топачевский А. В., Гак Д. З. Антонина Гавриловна Родина (1901—1966)	94

Хроника

Григорьев Б. Ф., Дедю И. И. Проблемы рационального использования природных ресурсов южной зоны Европейской части СССР.	96
--	----

Институт
Биологии южных морей
Библиотека

ДОПУСТИМО ЛИ ПРИМЕНЕНИЕ БАТОМЕТРОВ НАНСЕНА ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

М. Н. ЛЕБЕДЕВА, Э. Я. АНИЩЕНКО

(Институт биологии южных морей, Севастополь)

До сих пор, помимо батометров Нансена, нет надежно работающих приборов для отбора проб воды с любой заданной глубины в целях микробиологического анализа. Конструкция, рекомендуемая Ю. И. Сорокиным (1962 а), при проверке в экспедиционных условиях оказалась несовершенной и нуждается в доработке (отношение из Института биологии внутренних вод АН СССР за № 166 от 11 апреля 1964 г.).

В нашей лаборатории были изготовлены приспособления для стерильного отбора проб воды по типу приборов Сибурса (Siburth a. oth., 1963), которые представляют собой вариант J—Z прибора Цобелла (ZoBell a. Upham, 1941) с теми же резиновыми грушами, но прикрепленными непосредственно к батометру. Проверка их действия в море показала, что при подъеме открытых приборов, вода в них смешивается с окружающей водой вследствие турбулентности и перепада давления. (Так, титр дистиллированной воды в грушах после подъема их с глубины 1000 м равнялся 18,20—21,65‰ при солености воды в батометрах с того же горизонта 21,87‰).¹ Обмен воды уменьшается при небольших различиях в ее солености в грушах и извне, но в той или иной степени он будет происходить всегда в открытых приборах, что микробиологически абсолютно неприемлемо.

Мы поставили перед собой задачу экспериментально проверить, насколько обеспечивает достоверность микробиологических данных отбор проб воды латунными батометрами типа Нансена². Опытным путем мы намерены были выяснить, насколько отличаются данные по количественному содержанию гетеротрофных бактерий в воде при параллельном отборе проб с различной глубины нестерилизованными батометрами Нансена, батометрами, простерилизованными спиртом, батометрами, простерилизованными в автоклаве, и стерильными закрытыми склянками (по Родиной, 1950).

Методика. Пробы воды для сравнительных микробиологических исследований брали в открытой части Черного моря, в 20—30 милях от южного берега Крыма. Одна серия опытов проведена в Севастопольской бухте.

Взятые со всеми необходимыми при микробиологических исследованиях предосторожностями пробы воды исследовали в лаборатории на э/с «Ковалевский» методом проращивания мембранных фильтров (Крисс, 1959). Фильтровали 40 мл воды каждой пробы, после чего фильтры с осевшими на их поверхности микробными клетками накладывали тыльной стороной на поверхность питательного агара (тропический гидролизат рыбной муки) для проращивания. После трех-четырёх дней инкубации при температуре 26—30°С подсчитывали число колоний, выросших на фильтрах.

СТЕРИЛИЗАЦИЯ БАТОМЕТРОВ СПИРТОМ

Анализ воды, поднятой с различных глубин водной толщи параллельно батометрами нестерилизованными и простерилизованными спиртом (путем энергичного встряхивания 300 мл 96%-ного спирта в литровом батометре в течение 5 мин), показало, что по содержанию гетеротрофных бактерий вода в них практически была одинаковой (табл. 1). Об этом свидетельствует оценка существенности различий средних величин по критерию Стьюдента-Фишера (Ашмарин и Воробьев, 1962): при значимости 0,05 t было равно 0,47. Количество сапрофитных бактерий в воде независимо от способа от-

¹ Титрование солености проводилось сотрудницей лаборатории гидрохимии Т. Н. Коваленко, за что выражаем ей свою благодарность.

² В постановке отдельных опытов принимала участие лаборант В. С. Черепнева.

бора проб не выходило за пределы двузначных чисел. В аналогичных опытах Ю. И. Сорокина (1962 б, табл. 1) серийные батометры доставили воду, содержащую сотни и тысячи бактерий в 10 мл. Следует отметить, что представленные Ю. И. Сорокиным данные не только непостоянно высоки, но в разных статьях этого автора по материалам одной и той же тихоокеанской экспедиции часто не соответствуют друг другу. Так, в табл. 2 (Сорокин, 1962) в графе «Серийный батометр Нансена» (стр. 5143) горизонтам 50, 300, 600, 800, 4000 м соответствуют цифры, которые в табл. 3 другой статьи Ю. М. Сорокина (1962 в) отвечали горизонтам 100, 500, 1000, 2000 и 3000 м. Для горизонта 3000 м на той же станции в одной таблице приведена цифра 205, в другой — 4200; для горизонта 3000 м на станции 5159 (в тех же таблицах) в одном случае указана цифра 3450, в другом — 6900, а для 500 м — 215 и 1090. Несоответствия такого же рода обнаружены в таблицах 1 и 4 (Сорокин, 1962 в). Подобная путаница в цифровых данных, естественно, вызывает недоверие к ним.

Таблица 1

Содержание гетеротрофных бактерий в пробах воды, отобранных на различных глубинах Черного моря нестерилизованными и стерилизованными батометрами (цифры — число колоний в 40 мл воды)

Батометры	Глубина, м						Среднеарифметическая
	0	50	100	250	500	750	
Нестерилизованные	80	39	9	49	10	2	$\bar{X}_1=32$
Стерилизованные спиртом	35	17	6	94	14	8	$X_2=29$

Примечание. В табл. 1, 2 и 3 приведены средние данные из трех параллельных фильтраций каждой пробы.

Поскольку, как показали наши опыты, стерилизация батометров спиртом не влияет на содержание сапрофитных бактерий в пробах воды, поднятой этими батометрами, мы решили испытать эффект более жесткого способа стерилизации — автоклавирование батометров.

СТЕРИЛИЗАЦИЯ БАТОМЕТРОВ В АВТОКЛАВЕ

Два опыта с параллельным применением батометров, простерилизованных в автоклаве (при 1,5 атм в течение 1 час), и обычных серийных батометров (табл. 2) показали, что по содержанию гетеротрофных бактерий эти пробы очень близки одна другой, независимо от способа отбора. Из статистической обработки полученных данных следует, что и здесь различия между средними величинами не существенны ($t=0,41$ при $p=95\%$). В пересчете на 1 мл содержание гетеротрофов в пробах выражалось величинами того же порядка, что и у Ю. И. Сорокина (1962 а, табл. 4), проводившего исследования в Черном море в августе и сентябре со стерильными стеклянными батометрами. Вместе с тем наши материалы позволяют также сделать вывод о том, что приведенные Ю. И. Сорокиным данные относительно содержания гетеротрофных бактерий в пробах воды, параллельно отобранных серийными батометрами Нансена, в Черном море так же, как и в Тихом океане, искусственно завышены.

ПРИМЕНЕНИЕ СТЕРИЛЬНЫХ ЗАКРЫТЫХ СКЛЯНОК

Первые два опыта сводились к отбору проб воды с малых глубин (в пределах Севастопольской бухты) параллельно нестерилизованным и простерилизованным в автоклаве батометрами, а также стерильной закрытой склянкой (по Родиной, 1950).

И в том и в другом опытах более высокое содержание гетеротрофных бактерий отмечено при отборе проб стерильными склянками. Вода, поднятая обычными и простерилизованными в автоклаве батометрами, по содержанию сапрофитной микрофлоры практически не различалась (табл. 3).

Более высокое число гетеротрофных бактерий при отборе проб стерильными склянками было получено и в опыте, поставленном в открытом море. С глубины 5 м поднимали одновременно пробы воды 14 серийными батометрами и 19 стерильными склянками (табл. 4). Каждую из проб фильтровали дважды. Сравнение средних величин по методу Стьюдента свидетельствует о том, что вода в батометрах Нансена не только не богаче по содержанию сапрофитной микрофлоры, но даже несколько беднее, чем вода в стерильных склянках ($t=3,3$ при $p=95\%$). Это вызвано, по всей вероятности, тем, что пробы воды до момента обработки находились в холодильнике при температуре $6,8^\circ\text{C}$ в первом опыте от 2 до 6 час, во втором — от 35 мин до 4 час. В течение этого времени, очевидно, сказался бактерицидный эффект ионов меди, отданных стенками батометров в воду, перелитую в склянки.

Таблица 2

Содержание гетеротрофных бактерий в пробах воды, отобранных с различных глубин Черного моря стерилизованными в автоклаве и нестерилизованными батометрами
(цифры — число колоний в 40 мл воды)

Опыт	Батометры	Глубина, м														Среднеарифметическая
		0	25	50	100	150	200	250	500	750	1000	1250	1400	1500	1650	
(Июнь 1962) (Сентябрь 1962)	Стерилизованные	27	—	11	73	—	—	15	3	3	11	9	1	—	1	$X_1=24$ $\bar{X}_2=21$
	Нестерилизованные	16	—	12	76	—	—	3	4	6	20	30	5	—	4	
	Стерилизованные	60	34	27	40	63	37	18	28	—	7	—	—	5	—	
	Нестерилизованные	81	43	6	28	1	39	15	28	—	1	—	—	5	—	

Таблица 4

Содержание гетеротрофных бактерий в пробах воды, отобранных на глубине 5 м в глубоководной части Черного моря серийными батометрами и стерильными закрытыми склянками
(цифры — число колоний в 40 мл воды)

Способ отбора проб	Количество бактерий																				Среднеарифметическая и σ
Обычные батометры	354	160	311	260	474	72	176	67	37	148	192	127	90	356							$\bar{X}_1=202 \pm 121$
Стерильные склянki	—	564	281	296	470	90	309	272	502	411	545	516	298	230	400	278	284	400	259		$\bar{X}_2=354 \pm 59$

Примечание. Анализ проб проведен в двух повторностях.

Содержание гетеротрофных бактерий в воде Севастопольской бухты при отборе проб различными способами (цифры — число колоний в 40 мл воды)

Способ отбора проб	Глубина, м						Средне- арифме- тическая
	Опыт 1			Опыт 2			
	0	5	10	0	5	10	
Обычный батометр	80	166	8	106	124	18	$\bar{X}_1=67$
Батометр, простерилизованный в автоклаве	101	48	67	157	99	5	$\bar{X}_2=82$
Стерильная склянка	326	229	305	216	102	110	$X_3=215$

Следует отметить, что в опытах Н. Л. Гурфейн (1935), отбиравшей пробы воды параллельно батометрами и стерильными стеклянными баллонами Исаченко, несколько большее содержание гетеротрофных бактерий оказалось во вторых. В среднем расхождение между числом выросших колоний в том и другом случаях составило около 9%.

Таким образом, и в открытой, глубоководной части Черного моря, и в таких богатых органическим веществом бухтах, как Золотой Рог (Гурфейн, 1935) и Севастопольская, пробы воды, полученные батометром Нансена, отличались не только не большим, но даже несколько меньшим содержанием гетеротрофов, чем пробы, взятые на тех же глубинах стерильными закрытыми баллонами Исаченко или такими же склянками (по Родиной).

СУЩЕСТВУЮТ ЛИ САПРОФИТНЫЕ БАКТЕРИИ В ГЛУБИНАХ ОКЕАНА

Отбор проб до глубин 1000—2000 м Ю. И. Сорокин (1962, 1962 а, б, в) проводил при помощи эвакуированных баллонов. Достаточно обратить внимание на рекомендуемый автором способ стерилизации этих баллонов — пропускание через баллон при входном и выходном отверстии в нем, равном 1—1,5 мм, сильной струи пара в течение лишь 5—10 мин (Сорокин, 1962 в), — чтобы стало ясно, что Ю. И. Сорокин работал с практически нестерильными приборами. Из любого микробиологического руководства следует, что при стерилизации текучим паром стерильность обеспечивается лишь при трехкратном выдерживании материалов в аппарате Коха или автоклаве в течение 45 мин — 1,5 час¹. Следовательно, полученные Ю. И. Сорокиным величины по своему абсолютному значению являются функцией степени остаточной загрязненности баллона. Не удивительно поэтому, что почти 40% проб воды, полученных этим автором при помощи стерильных стеклянных баллонов в продуктивной зоне Тихого океана (0—200 м), содержало гетеротрофных бактерий на порядок величин больше, чем в батометрических пробах воды, по данным Абызова (Крисс, 1959, табл. 112—118). Таким образом, серийные батометры в зоне фотосинтеза, от продуктивности которой, по утверждению Ю. И. Сорокина, зависит степень их бактериального загрязнения, в опытах Абызова показали себя, как приборы, бактериологически более чистые, чем так называемые стерильные стеклянные баллоны Сорокина.

В пробах воды с глубин более 300—500 м Ю. И. Сорокин получал преимущественно нулевые количества бактерий. Причина этого, по-видимому, лежит в разрушении бактериальных клеток, находящихся на глубине 300 м и глубже под давлением 30 и более атмосфер при перенесении их в эвакуированные баллоны. Оболочки бактериальных клеток не способны выдержать столь резкий перепад давления. На этом основан один из способов (механический) дезинтеграции бактериальных клеток (Фостер и др. — Foster a. oth., 1962).

Что касается прибора с поршневым устройством Ю. И. Сорокина, то, судя по замечанию в отчете начальника биологического отряда в 34-м рейсе экспедиционного судна «Витязь», он показал ряд технических, требующих устранения дефектов (Виноградов, 1962), следовательно, надежность его при работе на больших глубинах сомнительна.

О непригодности глубоководных батометров Ю. И. Сорокина свидетельствуют и данные микробиологических исследований (табл. 5) японской экспедиции в Тихом океане (Тага Нобуо и др. — Тага Nobuo a. oth., 1962), полученные стерильным бактериологическим батометром J—Z Цобелла (1941). Результаты этих исследований опровергают утверждение Ю. И. Сорокина (1962, 1962 б) о том, что глубже 300—500 м в

¹ Отметим, кстати, что Цобелл и Упам (1946) рекомендуют проводить стерилизацию стеклянных сосудов для отбора проб в автоклаве, считая, что стерилизация 70%-ным спиртом или даже кипячение в течение 1 час не выдерживают критики.

океане сапрофитные бактерии не встречаются. Как это видно из материалов японских исследователей (см. табл. 5), ниже этих глубин насчитывались единицы, десятки и сотни бактерий в 100 мл воды. Отчетливо выступает также микро- и макрозоальность в горизонтальном и вертикальном распределении этих микроорганизмов.

Таблица 5

Вертикальное распределение гетеротрофных микроорганизмов на трех станциях Тихого океана *

Станция	Число бактерий в 100 мл воды на глубине (м)											
	0	20	50	100	200	400	600	800	1000	1500	2000	3000
Е ₄	390	20	50	10	25	55	30	210	8	3	8	
Е ₅	480	90	830	110	15	58	8	5	5	10	18	42
Е ₆	40	390	35	330	260	38	23	13	5	63	3	4

* По данным Тага Нобуо и др. (1962).

ВЫВОДЫ

1. Анализ воды, отобранной параллельно различными способами (обычным батометром, батометром, простерилизованным спиртом или в автоклаве, стерильной склянкой), на содержание сапрофитной микрофлоры в Черном море дает близкие величины, чаще всего лежащие в пределах одного порядка.

2. Полученные нами при отборе проб батометрами данные о содержании гетеротрофных бактерий в воде Черного моря имеют тот же порядок величин, что и полученные Ю. И. Сорокиным (1962 а), при работе со стерильными стеклянными баллонами.

3. Статистическая обработка данных по содержанию гетеротрофных бактерий в пробах воды, отобранной параллельно батометрами из гидрологической серии и стерильными склянками (по Родиной, 1950), показывает, что при использовании батометров данные по количественному развитию гетеротрофной микрофлоры оказались заниженными.

4. Пробы воды, полученные батометрами Нансена, следует обрабатывать в кратчайшие сроки с тем, чтобы свести до минимума бактерицидный эффект ионов меди, отданных стенками батометров в воду.

5. Экспериментальная проверка показывает, что в связи с отсутствием надежно работающих стеклянных приборов для бактериологического отбора проб воды с любой глубины морей и океанов этой цели могут служить металлические батометры Нансена.

ЛИТЕРАТУРА

- Ашмарин И. П., Воробьев А. А. 1962. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Медгиз, Л.
- Виноградов М. Е. 1962. Отчет о работах 34-го рейса э/с «Витязь», 1, М.
- Гурфейн Н. Л. 1935. Применение батометров для выемки проб при микробиологических исследованиях. Дальневост. мед. ж., 1.
- Крисс А. Е. 1959. Морская микробиология (глубоководная). М.
- Родина А. Г. 1950. Микробиологические исследования водоемов. Изд-во АН СССР.
- Сорокин Ю. И. 1962. Вертикальное распределение сапрофитных бактерий в водной толще центральной части Тихого океана. ДАН СССР, 145, 1.
- Его же. 1962а. Микробиологические исследования в Черном море. О методах отбора проб при изучении бактериального населения водной толщи. Микробиол., 31, 4.
- Его же. 1962б. Микрофлора водной толщи центральной части Тихого океана. Океанол., 2, 5, стр. 922.
- Его же. 1962 в. Вопросы методики отбора проб при изучении морской микрофлоры. Океанол., 2, 5, стр. 888.
- Foster J. W., Cowan R. M. and Maag T. A. 1962. Rupture of bacteria by explosive decompression. J. Bacteriol., 83, 2.
- Siburth J. McN., Frey J. A. and Conover J. T. 1963. Microbiological sampling with a piggi-Back device during routine Nansen bottle casts. Deep-Sea Res. 10, 6.
- Taga Nobio, Seki Fumitake. 1962. Preliminary Report on the Microbiological Survey made during the Fourth Cruise of Japanese Deep-Sea Expedition (JEDS-4) Oceanogr. Mag., 13, 2, p. 143.
- ZoBell C. E. and Upham H. 1941. Apparatus for collecting water samplers from different depths for bacteriological analysis. J. Mar. Res., 4.

Поступила 9.IX 1964 г.