

Л. Н. ПШЕНИН

COELOSPHAERIUM BENTICUM (nov. sp.)и *RHYNCHOMONAS METABOLITA* (nov. sp.)ИЗ ГЛУБОКОВОДНЫХ ИЛОВ СРЕДИЗЕМНОГО МОРЯ
В СОСТАВЕ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ КУЛЬТУР

В процессе изучения азотфиксирующих микроорганизмов в глубоководных грунтах Средиземного моря были обнаружены два интересных организма, имеющих, очевидно, отношение к процессу азотфиксации в илах. Один из них, принадлежащий к роду *Coelosphaerium* (*Cyanophyceae*), это — явный олигонитрофил, необычный по своим физиологическим свойствам и экологии. Другой — жгутиконосец из рода *Rhynchomonas* (Protozoa), связанный трофически с *Coelosphaerium* и некоторыми сопутствующими бактериями. Культуры этих организмов у нас успешно поддерживаются на безазотистых средах в течение уже более четырех лет и образуют значительный рост. После исчезновения в процессе пересевов случайных в отношении азотфиксации спутников, определившийся устойчивый состав смешанной культуры неизменно сохраняется длительное время. Изучение *Rhynchomonas* в связи с процессом азотфиксации представило интерес, так как оказалось, что этот жгутиконосец питается азотфиксаторами и, видимо, как и другие Protozoa, стимулирует фиксацию азота и рост азотфиксирующих микроорганизмов. Материалы данной статьи включают предварительные сведения об азотфиксации, наблюдавшейся пока только в смешанных культурах, в которых *Coelosphaerium* количественно доминировал над сопутствующими формами.

Краткие исторические сведения

Ко времени издания «Определителя морских сине-зеленых водорослей» (Косинская, 1948) было известно, что из почти 100 видов *Cyanophyceae*, обитающих в морях Средиземноморского бассейна, подавляющее большинство является прибрежными обитателями. В планктоне их насчитывалось немногим более 10 видов и всего 3 вида, обитающих в придонном иле. За последние годы пополнились списки морских планктонных сине-зеленых водорослей для отдельных морей Средиземноморского бассейна, появились новые данные о количественном развитии сине-зеленых в морской воде, описаны новые факты массового их размножения в планктоне (Aleem, 1950; Пицык, 1951, 1955, 1956; Bernard, 1956; Trégouboff, 1957 и др.). Однако в глубоководных илах морей Средиземноморского бассейна *Cyanophyceae*,

как видно, совершенно не изучались. Между тем, известно, что сине-зеленые водоросли представляют большую группу организмов с широким экологическим спектром. Разнообразные ее представители часто встречаются в условиях крайних значений ряда экологических факторов (света, температуры, солености, концентраций O_2 , H_2S , источников питания и т. д.). В связи с этим не вызывает особого удивления тот факт, что они оказались обнаруженными и в глубоководных морских грунтах.

Некоторые виды сине-зеленых из сем. Nostocaceae способны, наряду с фотосинтетической деятельностью, фиксировать молекулярный азот. Такие организмы рассматриваются как наиболее автотрофные. Свойство фотоавтотрофности позволяет им пышно развиваться на голых скалах, на вулканических изверженных материалах, в открытых частях пресных и морских водоемов (Еленкин, 1936; Fogg; 1947, 1956; Bernard, 1956), где развитие гетеротрофных микроорганизмов часто определяется наличием доступных форм органического вещества (Крисс, 1959). Способность фиксировать азот дает ряду видов сине-зеленых водорослей в периоды дефицита, связанного азота большое преимущество перед фотосинтетиками и гетеротрофами, неспособными фиксировать азот.

Наряду с этим, некоторые виды *Nostoc* в темноте способны питаться гетеротрофно и, используя в качестве источника углерода фруктозу, глюкозу, сахарозу, соли муравьиной кислоты, мочевины, при этом фиксировать азот (Fogg, 1947, 1956). Известны редкие случаи существования в природе обесцвеченных форм *Cyanophyceae*, примыкающих к бактериям (Еленкин, 1936). Бершова, Радзимовский и Сотникова (1958) обнаружили в обрастаниях артезианской системы водопровода г. Киева и в прилегающей почве организм, похожий по некоторым признакам на сине-зеленую водоросль *Chlorogloea* (порядок *Entophysalidales*). Клетки этого организма, однако, не имели фотосинтезирующих пигментов и могли развиваться анаэробно или при низком парциальном давлении кислорода в темноте и при рассеянном свете. Для его развития были необходимы органические вещества. Радзимовский (1958) описал этот организм, как новый вид *Chlorogloea pallida*. Одновременно он описал еще один, выделенный из этих же обрастаний, организм, сходный по своей физиологии с первым и оказавшийся не только новым видом, но и новым родом. Он был назван *Phormidiopsis artesisana*. Свойства данных организмов, как отмечают авторы, сближают их, с одной стороны, с *Cyanophyceae* (= *Mucorophyceae*), а с другой, с *Eubacteriales*. Эти факты, таким образом, подкрепляют известную теорию о филогенетической близости двух названных таксономических единиц и лишней раз убеждают в правомерности точки зрения об общности происхождения *Azotobacter* и сине-зеленых водорослей, принадлежащих к роду *Chroococcus* (= *Gloeocapsa*).

В настоящее время, кажется, не имеется данных о наличии азотфиксирующих организмов среди видов порядка *Chroococcales*, в том числе и видов интересующего нас рода *Coelosphaerium*. Однако, можно допустить, что в природе среди хроококковых должны быть формы, которые фиксируют азот в смеси лучше, чем в чистых культурах (или даже в последних совсем не фиксируют). Еще М. В. Бейеринк (Beijerinck, 1901), открывший *Azotobacter*, и сближавший его с хроококковыми водорослями, отметил понижение азотфиксирующей активности азотобактера в чистых культурах, по сравнению со смешан-

ными. М. В. Федоров и Т. А. Калининская (1959) наблюдали у олигонитрофильных микробов низкую азотфиксирующую активность в чистых культурах и весьма высокую — в смешанных. Факты такого рода обобщены в монографиях В. Л. Омелянского (1923) и М. В. Федорова (1952). Столь же возможным представляется существование в природе хроококковых, не содержащих фотосинтезирующих пигментов.

Относительно морских представителей рода *Coelosphaerium* в литературе имеется очень мало сведений. В «Определителе морских сине-зеленых водорослей» Косинской (1948) приводится единственный морской вид *Coelosphaerium halophylum* (Lemm.) Geitler, обитающий в планктоне морской лагуны тихоокеанского острова Лайзан (Сандвичевы острова). В планктоне Азовского моря П. И. Усачев (1927) нашел ряд сине-зеленых, в том числе *Coelosphaerium*, которые, однако, представляют собой типично пресноводные организмы (Еленкин, 1936). Все известные виды рода *Coelosphaerium*, как пресноводные, так и морские, являются свободноплавающими (Еленкин, 1936, 1938; Голлербах, Косинская и Полянский, 1953; Косинская, 1948; Friisch, 1945).

Rhynchomonas впервые был описан А. Штокесом (Stokes, 1888) как *Heteromita nasuta*. Г. Клебс (Klebs, 1892), обнаруживший идентичный организм в пресной воде, основываясь на наличии у него хоботка, своеобразного органа движения, установил новый род *Rhynchomonas*. Он нашел, что этот жгутиконосец размножается путем деления и питается бактериями. Позже *Rh. nasuta* был отмечен Б. Паризи (Parisi, 1910), как случайный компонент в кишечнике *Periplaneta orientalis*. Б. Паризи подтвердил размножение у *Rh. nasuta* путем деления. К. Грисман (Grissmann, 1914) описал два морских вида: *Rhynchomonas nasuta* и *Rh. mutabilis*, обитающие в различных морях среди морских водорослей. Он отметил, что яйцеобразное (до продолговатоэллиптического) тело *Rh. nasuta* размерами $5-8 \mu \times 2-3 \mu$ немного сжато с боков и проявляет чрезвычайно вялое движение. Он подтвердил также наличие своеобразного способа бактериального питания. К. Беларж (Belarj, 1916) первый получил в большом количестве в агаровой культуре пресноводную форму *Rh. nasuta*, выделенную из плесневой пленки болотной воды (старича Дуная), детально исследовал ее строение, движение, клеточное деление и наметил схему филогенетических связей рода *Rhynchomonas*. К. Беларж отметил, в частности, что *Rhynchomonas* не является метаболизирующим организмом, что его волоочающийся бич не прирастает частью своей начальной длины к телу животного, что тело жгутиконосца только немного сжато с боков и, наконец, что пищей для *Rh. nasuta* служат кокки. Х. Ломанн (Lohmann, 1920) в разное время встретил и описал 4 новых морских планктонных вида *Rhynchomonas*: *Rh. marina*, *Rh. spinifer*, *Rh. acuta* и *Rh. curvata*. Все они сильно отличаются от прочих видов крупными размерами, морфологией и экологией. В рейсе через Атлантический океан на корабле «Deutschland» Х. Ломанн провел наблюдения на 46 станциях за количественным распределением планктонных *Rhynchomonas* и, в частности, *Rh. marina*, *Rh. acuta* и *Rh. curvata*. Первый из них Ломанн причисляет к глубоководным, а последние два — к поверхностным планктонным.

Данных о существовании *Rhynchomonas* в глубоководных илах в литературе нами не было найдено.

Материал и методика

Пробы грунта были взяты в восточной половине Средиземного моря на 17 станциях (рис. 6) в период летней экспедиции 1959 г. На 15 станциях в Тирренском море, в центральном и восточном районах Средиземного моря отбор проб производился с глубины 298, 605, 814, 860, 917, 1.075, 1.207, 1.770, 2.353, 2.423, 2.504 и 2.729 м дночерпателем «Океан» и с глубины 1.162, 2.375 и 4.109 м геологической трубкой сотрудниками Севастопольской биологической станции АН СССР микробиологом Ю. А. Горбенко и гидробиологом В. Д. Чухчиным с борта экспедиционного судна ин-та океанологии АН СССР «Акад. Вавилов». На 2-х станциях в Эгейском море пробы грунта были взяты дночерпателем Петерсена с глубин 100 и 218 м. По извлечении со дна пробы грунта переносились в стерильные склянки с притертыми пробками, которые сохранялись до посева в холодильнике при температуре 6—7°C. Интервалы между взятием проб и посевом колебались от 1,5 до 3 месяцев. Для аэробных азотфиксаторов использовалась разлитая в 50-миллилитровые колбы по 30 мл жидкая среда Федорова, содержащая 75% средиземноморской и 25% дистиллированной воды. Для определения количества клеток и микроколоний микробов в 1 кг ила применялся метод титров (Драчев и др., 1953). Каждая проба грунта сеялась в серии колбочек в количествах 10; 1; 0,1; 0,01, 0,001 и 0,0001. Посевы при этом 2—3 раза в разные сроки тщательно микроскопировались. Наблюдения за развитием культур производились около 1,5 лет, причем культуры пересеивались каждые 2—3 месяца, и над ними велись наблюдения в течение 6—8 месяцев. Морфология организмов изучалась в прижизненном или слабо-фиксированном (формалином) состоянии. В настоящее время культуры успешно поддерживаются. Для определения способности *Coelosphaerium* образовывать фотосинтезирующие пигменты, а также для оценки степени роста в условиях фотоавтотрофного и гетеротрофного существования на свету и в относительной темноте смешанные культуры, в которых *Coelosphaerium* количественно преобладал, сеялись в жидкую «безазотистую» среду Ватанабе (Watanabe и др., 1951) с 75% средиземноморской и 25% дистиллированной воды. Три серии колбочек, содержащих: 1) основной раствор без глюкозы — для выращивания на свету; 2) основной раствор плюс глюкоза, для выращивания на свету и 3) то же — для содержания в темноте, перед посевом стерилизовались при 0,5 атм в течение 20 мин. После посева первая и вторая серии колбочек выставлялись на дневной свет на северном окне, а третья помещалась в темноте или в условиях сильно рассеянного света при 20—25° С. Через 2 месяца посевы исследовались микроскопически и культурально, сопоставлялся рост в различных условиях. Над некоторыми посевами наблюдения продолжались еще 3—4 месяца. По истечении 5—6 месяцев ряд культур испытывался спектрофотометрически и флуорескопически на присутствие фотосинтезирующих пигментов. Культуры отцеживались через фильтровальную бумагу. Масса водоросли до 500 мг снималась с фильтров, растиралась в ступке с тонким порошком жженой магнезии и ацетоном, а параллельная проба — с дистиллированной водой, центрифугировалась, и половина объема каждого прозрачного экстракта сливалась в кювету и исследовалась в спектрофотометре СФ-4 на присутствие в ацетоновых экстрактах хлорофилла а, а в водных — фикоцианина. Вторая половина экстрактов выливалась в пробирки из Violetglas и исследовалась в ультрафиолетовом свете, излучаемом осветителем

ОИ-18. При этом использовались светофильтры УФС-3 и пара фильтров СС-4 и СС-8. Смешанные культуры в возрасте 5—6 месяцев, в которых всегда количественно преобладал *Coelosphaerium*, испытывались микрометодом Кьельдаля на способность фиксировать молекулярный азот. Культуры выращивались при 20—25° С на свету и в относительной темноте на глюкозе. Колбы содержались в эксикаторах с периодически сменяющимся воздухом, который очищался от примесей аммиака и окислов азота. В жидкой среде Федорова контролировались примеси связанного азота.

Результаты

Культуральные признаки. В жидкой среде Федорова после инокуляции илом, содержащим *Coelosphaerium*, через 6 суток при 26—30° С появляются следы мути и сероватые хлопья роста, частично взвешенные пузырьками газа в толще жидкости или осевшие на дно колбы. На 8-ые сутки выделение газа усиливается, а на 10-ые — образуется слой пены высотой от 2 до 5 мм. Газообразование идет тем активнее, чем больше внесено в среду ила. На 15—20-е сутки осадок и жидкость чернеют, ощущается запах H_2S . На 24-е сутки слой пены над жидкостью может вырасти настолько, что едва не касается ватной пробки. За это время рост на дне колбы увеличивается, превращаясь в рыхлый слоисто-пленчатый осадок. Через 30 суток процесс редукции сульфатов идет на убыль, жидкость просветляется, но осадок местами еще черный. Ближе к границе соприкосновения жидкости с воздухом рост начинает приобретать желтовато-ржавый цвет от выпадающей окиси железа. В меньших масштабах выделение газа, редукция сульфатов и отложение окиси железа наблюдаются при инокуляции среды меньшими, чем 10 и 1 г, количествами ила, а при посеве 0,001 и 0,0001 г ила — почти всегда отсутствуют.

Микроскопирование посевов ила показало, что рост в осадке состоял в значительной степени из колоний *Coelosphaerium* с примесью клеток *Rhynchomonas* или других жгутиконосцев, напоминающих по внешнему виду *Spongomonas*, *Bodo* и *Pseudobodo**. Осадок содержал также *Clostridium*, *Bacillus*, *Bacterium*, нитевидные формы, *Spirillum* и *Spirochaeta*. В желтовато-ржавом осадке наблюдались большие скопления колоний *Coelosphaerium*, покрытых слоем окиси железа. Очевидно железобактерии, вступая в контакт с водородсодержащей, отлагают на ее оболочках окисное железо. Возможно, этому способствуют также жгутиконосцы (Холодный, 1949).

В процессе пересевания быстро исчезают споровые палочки, сульфатредуцирующие и железоокисляющие бактерии. Белый рост *Coelosphaerium* составляет основную часть биомассы, образующейся в культурах. Выявляется устойчивый комплекс организмов: *Coelosphaerium* — *Rhynchomonas* — *Spirillum* — *Bacterium*, в котором количественно, обычно, господствует *Coelosphaerium*. Приблизительное соотношение количества клеток *Coelosphaerium* и *Rhynchomonas* в этом комплексе выражается как 300 : 1—400 : 1.

В исключительных случаях жидкость сильно мутнеет и в культуре возрастает количество *Spirillum* и задерживается рост *Coelosphaerium*.

*) Последние три жгутиконосца исчезли после первого же пересева на свежую среду.

Создается впечатление, что отношения между *Coelosphaerium* и бактериями в культуре напряженные и могут обостряться. В культурах, где много *Spirillum* и *Bacterium*, осадок и жидкость часто тягучие. В обычных же культурах жидкость прозрачная, а в осадке наблюдается рыхлый слоисто-пленчатый белый или серовато-белый рост *Coelosphaerium* с незначительной примесью спутников. Такой рост легко эмульгируется петлей в капле воды. Культуры в возрасте от 4 до 8 месяцев часто приобретают бледный желтовато-зеленоватый оттенок.

Морфология *Coelosphaerium*. Внешний вид колоний показан на рис. 1, фиг. 1—8. Это шаровидные или продолговато-овальные слизистые бесцветные тела, окруженные бесструктурной оболочкой толщиной до 2—3 μ . У старых колоний оболочка становится более плотной, ломкой и бледно-зеленоватой, а ее контуры — более резкими (рис. 1, фиг. 2, 4, 5; рис. 4). Размеры колоний колеблются от 4 до 26 μ в поперечнике, а продолговато-овальные колонии (рис. 1, фиг. 1, 3, 4, 6—8) — до 32 μ в длину. Встречаются и мелкие 5—10-клеточные колонии 4—6 μ в диаметре. Колонии делятся в двух приблизительно перпендикулярных направлениях (рис. 1, фиг. 1). При этом в культуре образуются сначала хлопья, состоящие из нескольких десятков колоний (рис. 1, фиг. 6), а затем пленочки площадью до нескольких см², насчитывающие тысячи колоний. Наслаиваясь одна на другую, пленки образуют рыхлую слоистую массу роста в осадке.

Клеточки располагаются по периферии слизистого шара колонии рыхлым или плотным слоем в один, два или даже три неправильных ряда. Деление клеточек происходит в двух, очевидно, не строго перпендикулярных направлениях. Клеточки — неправильно-шарообразные или слегка продолговатые, газовых вакуолей не содержат. Диаметр клеток варьирует от 0,5 до 2 μ . Оболочки «перезрелых» колоний легко лопаются, и их клеточки частично высыпаются наружу, а частично остаются в пределах лопнувшей колонии (рис. 1, фиг. 10; рис. 3). Плазма клеток гомогенная, но иногда в культурах в возрасте 70—90 суток и более можно заметить, что наряду с гомогенными клеточками встречаются клетки, содержащие по нескольку очень мелких зерен. Судя по ряду промежуточных форм, можно предположить, что эти зернышки разрастаются до самостоятельных клеточек, а материнская клетка — до взрослой колонии. В дочерних клеточках и колониях зарождаются новые клеточки и колонии и т. д., так что первоначальная клетка превращается в сложную колонию типа *Gloeocapsa*, часто имеющую форму колоний *Coelosphaerium* (рис. 1, фиг. 12—14). Однако, если принять во внимание, что такие колонии наблюдаются нечасто, то, может быть, они являются отклонением от нормального развития. Менее необычными кажутся колонии, у которых оболочки сильно утончены и облегают клетки, повторяя их формы (рис. 1, фиг. 11, 12).

Физиологические особенности *Coelosphaerium*. Спектрофотометрические и флуорескопические определения, а также опыт по изучению типа питания показали, что обнаруженная нами форма *Coelosphaerium* обладает некоторыми физиологическими особенностями. На рис. 5 изображены две кривые поглощения ацетоновых экстрактов из смешанных культур *Coelosphaerium*. Кривая А принадлежит культуре 102, содержащейся в течение 6,5 месяцев в темноте, а кривая Б — культуре 97, экспонированной в течение 5 месяцев на свету. В 97-й культуре наблюдался весьма мощный желтовато-зеленоватый осадок, жидкость была слегка мутной вследствие развития мелких подвижных

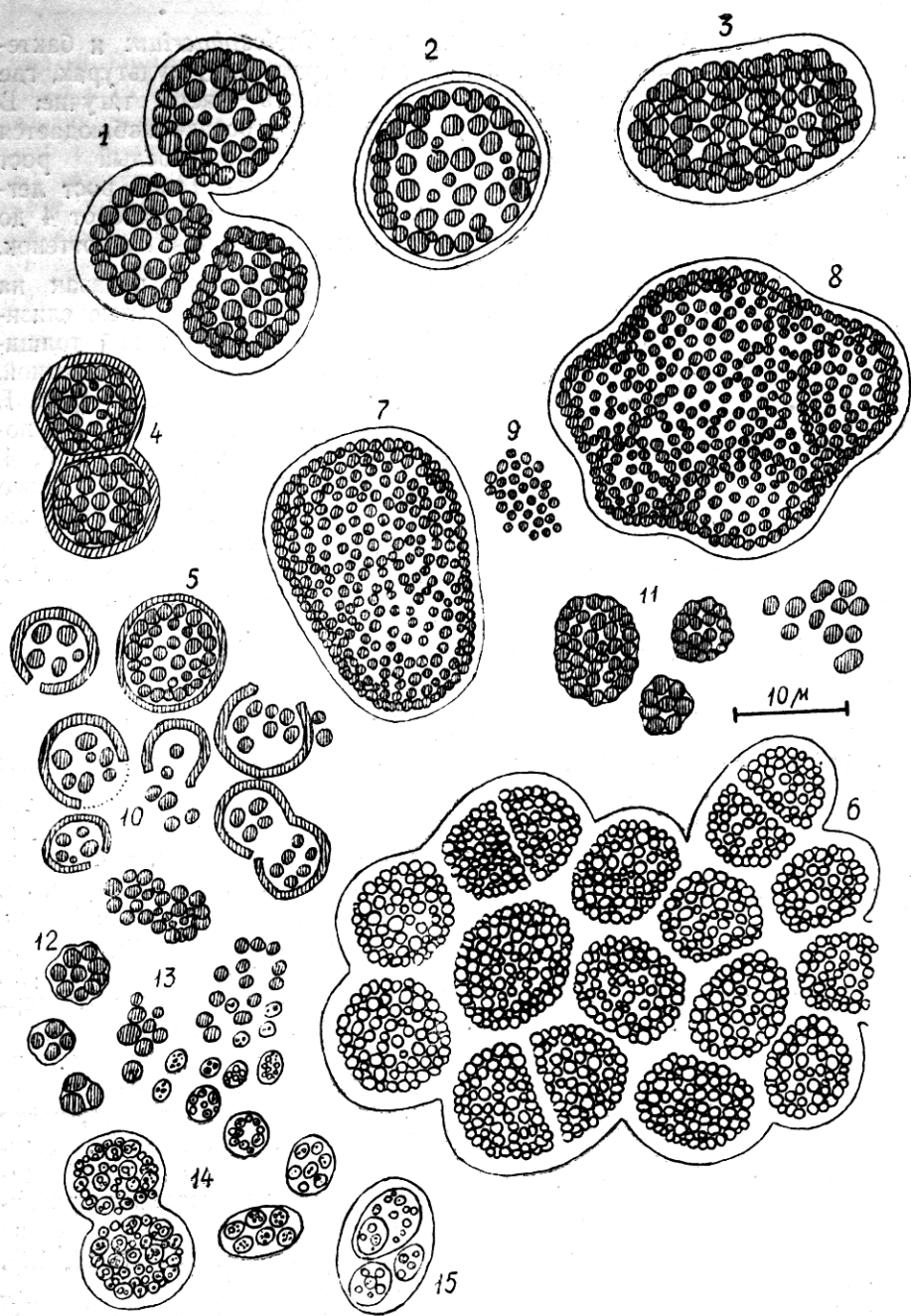


Рис. 1. *Coelosphaerium benticum* (nov. sp.). Фиг. 1—8 — колонии. Фиг. 10 — разрушенные колонии. Фиг. 11, 12 — колонии с утолщенной оболочкой. Фиг. 9, 13 — гомогенные и зернистые клеточки из распавшихся колоний. Фиг. 14—15 — „сложные“ колонии.

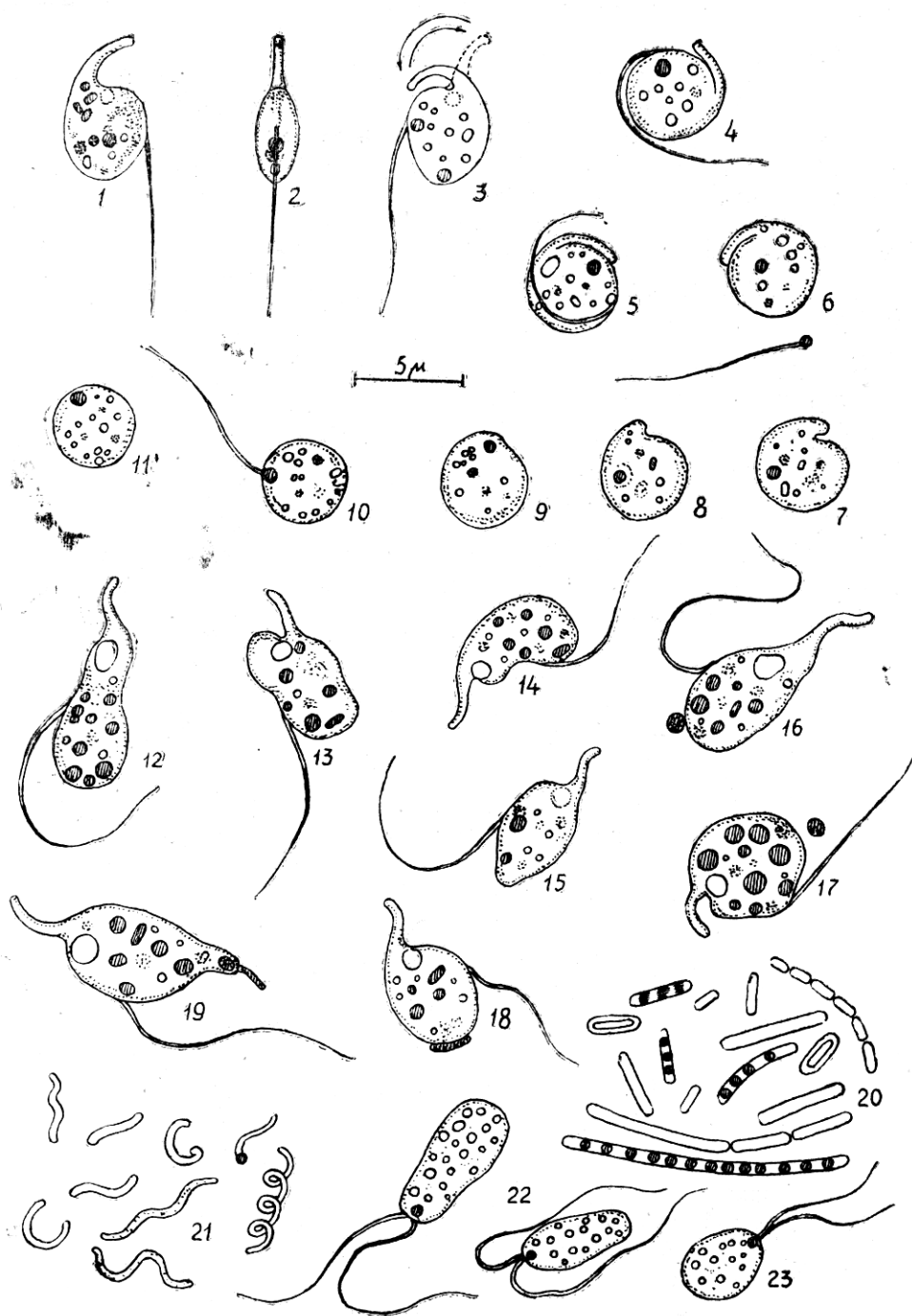


Рис. 2. *Rhynchomonas metabolita* (nov. sp.). Фиг. 1, 2 — форма тела в спокойном состоянии. Фиг. 3 — схема движения хобота. Фиг. 4-11 — формирование цист. Фиг. 12-19 — картины метаболизма тела. Фиг. 17-19 — дефекация. Фиг. 20, 21 — *Bacillus* и *Spirillum*, сопутствующие *C. benticum* и *Rh. metabolita*. Фиг. 22, 23 — жгутиконосцы, встреченные в посевах ила вместе с *C. benticum* и исчезающие после первого пересева на свежую среду Федорова.



Рис. 3. „Пастбище“ *Rhynchomonas metabolita*. Клетки жгутиконосца, поедающие клеточки разрушенных колоний *Coelosphaerium benticum*.

спирилл. В осадке встречалось множество подвижных клеток *Rhynchomonas*. В 102-ой культуре отмечались обычный белый рост *Coelosphaerium* в осадке, прозрачная жидкость, очень мало бактерий и значительно меньшее, чем в 97-ой культуре, количество клеток *Rhynchomonas*. Сопоставление кривых показывает, что они одинаковы по форме и очень мало различаются по уровням. Небольшие подъемы кривых наблюдаются в области, характерной для максимумов поглощения хлорофилла а в ацетоновом экстракте. Это дает основание полагать, что в смешанных культурах присутствуют следы хлорофилла. Спектрофотометрические данные подтверждаются результатами флуорескопии (красноватая флуоресценция ацетоновых экстрактов в ультрафиолетовом свете). Водные экстракты не проявили никаких признаков фикоцианина ни в спектрофотометре, ни в ультрафиолетовом свете.

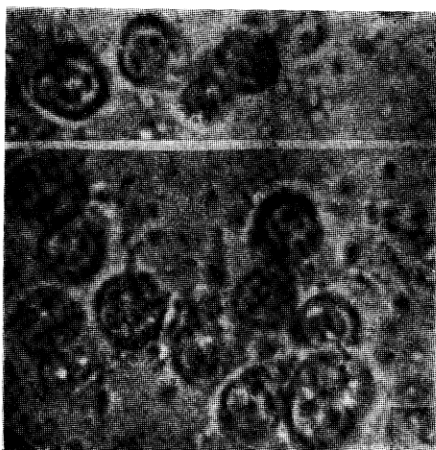


Рис. 4. Разрушающиеся колонии *Coelosphaerium benticum* (увел. 125 $\times$)

Подъемы кривых не могут быть объяснены возможным наличием бактериальных пигментов, так как последние имеют отличающиеся от хлорофилла спектры поглощения. Кроме того, в процессе приготовления экстрактов большинство бактериальных клеток удалялось с фильтратом при отцеживании роста *Coelosphaerium* через обычную фильтровальную бумагу. Следы хлорофилла не могли принадлежать *Rhynchomonas*, так как последний является бесцветным простейшим. Кроме того, 97-ая культура с большим количеством *Rhynchomonas* дала даже несколько меньший подъем кривой, чем 102-ая культура с малым его количеством. Таким образом, следы хлорофилла могли принадлежать только клеткам *Coelosphaerium*. Результаты опыта

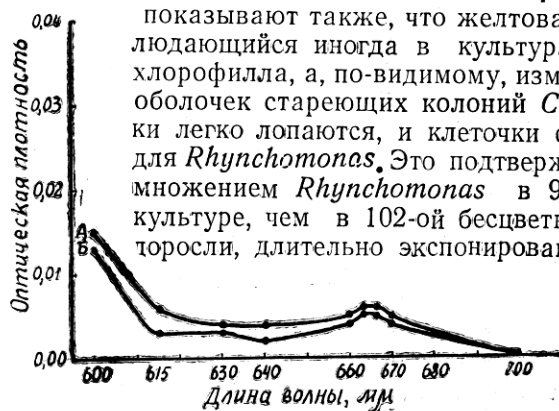


Рис. 5. Кривые поглощения ацетоновых экстрактов из клеток *Coelosphaerium benticum*. А — культура № 102 в возрасте 6,5 месяца, содержавшаяся в темноте. Б — культура № 97 в возрасте 5 месяцев, содержавшаяся на свету.

показывают также, что желтовато-зеленоватый оттенок, наблюдающийся иногда в культурах, вызывается не наличием хлорофилла, а, по-видимому, изменением состава и плотности оболочек стареющих колоний *Coelosphaerium*. Такие оболочки легко лопаются, и клеточки становятся объектом питания для *Rhynchomonas*. Это подтверждается более обильным размножением *Rhynchomonas* в 97-ой желтовато-зеленоватой культуре, чем в 102-ой бесцветной. Следы хлорофилла у водоросли, длительно экспонированной на свету, очевидно, не увеличиваются, а остаются такими же, как и у водоросли, выращиваемой в темноте. Опыт показал, что на свету, в среде с минеральными солями без глюкозы, организм в течение 5 месяцев не дал никаких признаков роста. В то же время в среде с глю-

козой на свету и в темноте наблюдался одинаково хороший рост. Следовательно, данная форма *Coelosphaerium* является облигатно-гетеротрофным организмом. Присутствие же следов хлорофилла в ее клетках можно предположительно объяснить по-разному, в зависимости от того, какой тип питания, автотрофный или гетеротрофный, считать первичным для Суапорхусеае — вообще и для новой формы *Coelosphaerium* — в частности. Если предположить, что первичным является фотоавтотрофный тип питания, то можно допустить, что рассматриваемая форма приспособилась к жизни в глубоководных илах, попав сюда из зоны фотосинтеза, где она обитала в планктоне или в илах на мелководье. Переселившись на глубины, куда не проникает солнечный свет, эта форма *Coelosphaerium* перестроила свой тип питания из фото-автотрофного в облигатно-гетеротрофный. Не исключена возможность, что она уже перед этим была, как и многие современные сине-зеленые водоросли, частично гетеротрофным организмом (Еленкин, 1936). Необратимо утратив способность продуцировать фикоцианин, она сохранила, как атавизм, способность продуцировать лишь следы хлорофилла.

Если же, наоборот, принять, что первичным является гетеротрофный тип питания, то можно предположить, что новая форма *Coelosphaerium* была и является глубоководным обитателем с физиологическими свойствами древних предков хроококковых и с морфологией, сходной с таковой некоторых современных видов *Coelosphaerium*. Следы хлорофилла в ее клетках представляются с этой позиции как проявление нереализованной тенденции к фотоавтотрофному способу питания, ставшему в современную эпоху общим почти для всех известных видов Суапорхусеае.

Вопрос о том, какое из этих двух предположений является более правильным для данного конкретного случая, требует специального изучения.

Систематическое положение. Новая форма *Coelosphaerium* обладает признаками, свойственными всем видам этого рода. С некоторыми из них она сближается по ряду признаков, однако, существенно отличается от них морфологически, физиологически и экологически. По внешнему виду колоний (рис. 1, фиг. 1—5) она очень похожа на *Coelosphaerium dubium* Grun (Фрич, 1945; фиг. 312, С и D), но у нее меньше размеры клеточек и колоний, более тонкая оболочка последних и нет газовых вакуолей. По размерам колоний новая форма сходна с *Coelosphaerium pusillum* van Goor, но отличается от него размерами, формой клеточек и хорошо заметной оболочкой у колоний. По размерам колоний, клеточек и их расположению в 2—3 неправильных ряда она больше всего сходна с *Coelosphaerium natans* Lemm. и *C. minutissimum* Lemm., а с последним, кроме того, и отсутствием газовых вакуолей (Голлербах и др., 1953). Однако новая типично морская форма отличается от всех известных видов *Coelosphaerium* полным отсутствием в ее клетках фикоцианина наличием лишь следов хлорофилла, облигатно-гетеротрофным типом питания, глубоководным бентическим образом жизни и способностью образовывать на придонном субстрате слоисто-пленчатый рост. Все это, как нам кажется, позволяет отнести этот организм к самостоятельному виду и, в связи с последними ярко выраженными свойствами, назвать его *Coelosphaerium benticum*.

Rhynchomonas. В глубоководных илах Средиземного моря вместе с *Coelosphaerium benticum* живет жгутиковая хоботковая монада *Rhynchomonas* (рис. 2, фиг. 1—19). В смешанных культурах на жидкой безазотистой среде Федорова она уже более года сопутствует *C. benticum*. Эта бентическая форма резко отличается малыми размерами и морфологией от морских планктонных видов *Rhynchomonas*, описанных Ломаном (1920): *Rh. marina*, *Rh. acuta*, *Rh. curvata* и *Rh. spinifer*. От морского вида *Rh. mutabilis*, найденного на морских Florideae и описанного К. Грисманом (1914), она отличается по морфологии столь же сильно, как и *Rh. nasuta*, найденная тем же автором среди ряда морских водорослей.

Значительное сходство наблюдается между новым организмом и морской и пресноводными формами *Rh. nasuta* (Штокес, 1888; Клебс, 1892; Грисман, 1914; Беларж, 1916) по размерам, морфологии, способу питания, движения и по наличию связанного с бичом блефаропласта (рис. 2, фиг. 6). Так же, как и у *Rh. nasuta*, из-за прозрачности и гомогенности клеточных структур не удается рассмотреть ротовое и анальное отверстия. Крупная вакуоль, расположенная вблизи хоботка, как и у морской формы *Rh. nasuta*, никогда не сокращается. Цистобразование сопровождается укорочением и исчезновением хоботка и утратой волочащегося бича (рис. 2, фиг. 4—11). Наряду с этим между ними наблюдаются существенные различия. Как показано на рис. 2, фиг. 12—19, новая форма является сильно метаболизирующей, чего никогда не отмечалось у *Rh. nasuta*. Напротив, Беларж (1916) даже указывает, что *Rhynchomonas* лишен такого свойства. В спокойном состоянии тело обнаруженного нами организма, имеющее при рассмотрении сбоку яйцевидное очертание размерами $3,5—7\ \mu \times 2—4,5\ \mu$ (без хобота), сильно сжато с боков. В результате этого со стороны «брюшка» и «спинки» оно имеет вид двояковыпуклой линзы толщиной в 1—2 μ (рис. 2, фиг. 1 и 2). Хоботок примерно в 2 раза короче длины тела (от 1,5 до 3 μ). Движение хоботка (рис. 2, фиг. 3) чрезвычайно оживленное, и перемещение клетки с места на место весьма быстрое. Ни разу не удалось заметить, чтобы волочащийся бич (длина которого колеблется от 7 до 10 μ) начинался и отходил от клетки рядом с хоботком, как это отмечалось у *Rh. nasuta*. Несмотря на присутствие в среде бактерий, рассматриваемая форма *Rhynchomonas* предпочитает питаться в основном клеточками *Coelosphaerium*, от 0,5 до 1 μ в диаметре, которые всегда видны в теле жгутиконосца (рис. 2, фиг. 12—19). Бактерии не более 1—2 μ в длину также могут употребляться в пищу, однако, они реже встречаются в теле животного (рис. 2, фиг. 1, 13, 14, 18 и 19). В момент заглатывания пищи и дефекации движение ускоряется, крупные волны сокращений проходят по телу монады. Заглатывание обычно сопровождается вздуванием крупного «зоба» перед хоботком (рис. 2, фиг. 13); а дефекация — удлинением заднего конца тела (рис. 2, фиг. 19). Отличительные свойства этого организма позволяют рассматривать его как новый вид, который мы назвали *Rhynchomonas metabolita*.

Фиксация N_2 в смешанных культурах. Рост и фиксация N_2 в жидкой среде Федорова происходили довольно медленно. За 6 месяцев инкубации в 50 мл среды, содержащих 1 г глюкозы, 100-я культура фиксировала 3,83 мг N, потребив 557,3 мг глюкозы, а 101-ая культура — 3,82 мг N с потреблением 406,5 мг глюкозы.

Таблица I

Фиксация молекулярного азота смешанными культурами
в течение 6 месяцев инкубации при 22—25° С

№ куль- туры	Состав организмов смешанной культуры	Приблизительное соотношение коли- чества клеток организмов в культуре	Количество фиксированного N в мг на 1 г использо- ванной глюкозы
100*)	<i>Coelosphaerium benticum</i> <i>Spirillum</i> <i>Bacterium</i> <i>Rhynchomonas metabolita</i>	400 50 40 1	6,87
101)*	<i>Coelosphaerium benticum</i> <i>Spirillum</i> <i>Bacterium</i> <i>Rhynchomonas metabolita</i>	300 40 30 1	9,39

*) Культуры выделены из ила, взятого с глубины 2353 м в центральном районе восточной половины Средиземного моря в 93 милях от о. Касос, в 95 милях от о. Родос и в 110 милях от берегов Турции на станции № 387.

Продуктивность азотфиксации, как показано в таблице I, у культур была значительной и составляла 6,87 и 9,39 мг N на 1 г использованной глюкозы. В анализируемых культурах *Coelosphaerium* по количеству клеток преобладал над бактериями, несмотря на то, что его клетки предпочтительно поедались жгутиконосцем. Клетки бактерий были преимущественно мелкими, 2—3 μ в длину, хотя их размеры колебались в пределах: у *Spirillum* — 1,8—2,7 $\mu \times 0,4$ —0,5 м и у *Bacterium* 1,4—5 $\mu \times 0,6$ —0,7 μ . Если прирост фиксированного азота в культурах был пропорционален образованию клеточной биомассы, то можно с уверенностью считать, что наибольшая доля участия в азотфиксации приходилась на *Coelosphaerium benticum*.

Экология *Coelosphaerium benticum* и *Rhynchomonas metabolita* и их количество в пробах ила. Из 17 станций, распределенных по всей восточной половине Средиземного моря (рис. 6), на которых глубина варьировала от 100 до 4109 м, *Coelosphaerium benticum* был встречен на 4 станциях (316, 387, 400, 411), а *Rhynchomonas metabolita* — на двух (316 и 387). Все 4 указанные станции расположены на большом протяжении от района Сирии до юго-западной Италии, что позволяет предположить о широком распространении бентических форм *Coelosphaerium*, *Rhynchomonas* и других флагеллат в Средиземном море. *Spirillum* и *Bacterium* встречались повсеместно. Одна из четырех проб ила содержала вулканический пепел (ст. 316 в Тирренском море). Это наводит на мысль о некоторой аналогии с поселениями сине-зеленых водорослей на вулканическом пепле на суше (Еленкин, 1936; Фогг, 1955). Но вулканический пепел, видимо, не обязателен для *C. benticum*, так как этот организм был встречен в трех других пробах ила, не содержащих пепла. Не исключена возможность, что *C. benticum* обитает

и в некоторых других, указанных на рис. 6, точках, но он либо погиб, не перенеся резкого изменения условий при извлечении, хранении и посеве проб ила, либо при отборе проб из дночерпателя пленка роста *Coelosphaerium* не была захвачена шпателем и не попала вместе с илом в стерильную склянку в силу возможной зональности в распределении пленок на поверхности ила. Возможно, пленка была смыта во время извлечения проб грунта с морского дна. При взятии проб грунта

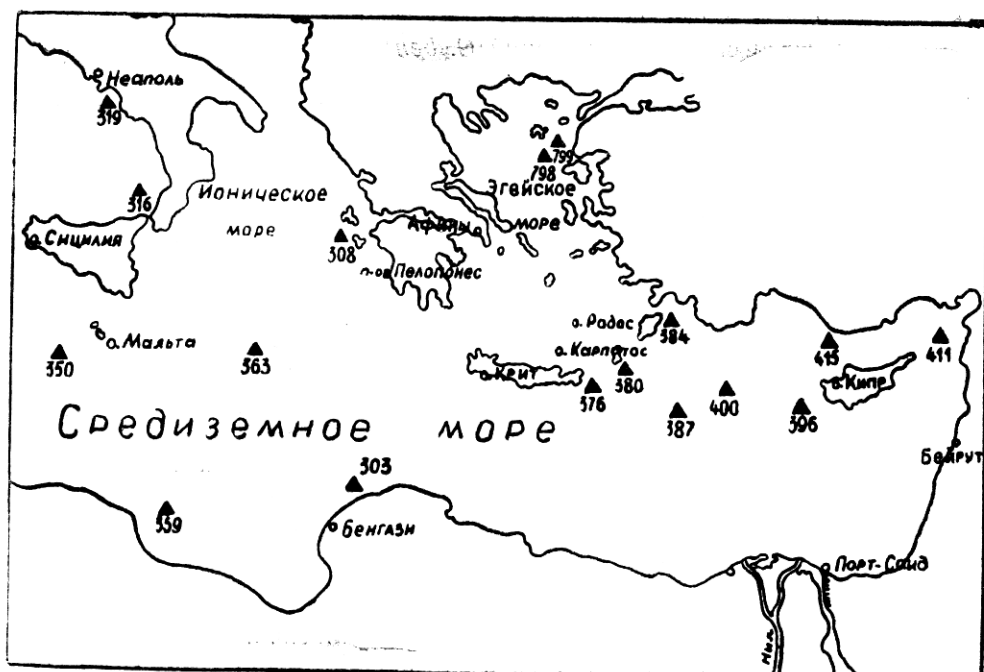


Рис. 6. Расположение станций.

дночерпателем с меньших глубин вымывание *Coelosphaerium* менее вероятно, чем при извлечении проб с больших глубин. Но тем не менее, эта сине-зеленая водоросль не была обнаружена в пробах ила, взятых с глубины от 100 до 1076 м, хотя она была найдена в пробах, взятых на глубине от 1162 до 2375 м в 24 и 110 милях от берегов и в 6 и 93 милях от ближайших островов. Из таблицы II следует, что наибольшее количество *Coelosphaerium* было обнаружено в пробе, взятой с глубины 2353 м в 110 милях от берега континента и в 93 милях от о. Касос (ст. 387). Все это склоняет к мысли, что *C. benticum* является обитателем преимущественно глубоководных илов и тем самым резко отличается по своей экологии от известных видов рода *Coelosphaerium*. Жизнь этой водоросли в глубоководных илах становится возможной благодаря ее физиологическим особенностям. *C. benticum* может переносить резкие колебания в содержании O_2 и присутствие H_2S в значительных концентрациях. Так, при посеве ила в среду Виноградского для анаэробных азотфиксаторов и при дальнейших пересевах в свежую среду на дне пробирок, где парциальное давление O_2 весьма низкое,

наблюдался довольно мощный рост *C. benticum* при наличии *Rh. metabolita*. Последние находились в состоянии активного движения, так же как и в хорошо аэрируемой жидкой среде Федорова. Во время развития процесса сульфатредукции оба организма также пребывали в активном состоянии. Будучи облигатным гетеротрофом, *Coelosphaerium benticum* использует повышенное содержание органического вещества в илах, на поверхности которых он, вероятно, образует свои рыхлые слоистые пленки. На поверхности же пленок, а, возможно, и между их слоями обитает *Rh. metabolita*, который поедает клеточки *Coelosphaerium*. Микроскопические наблюдения за культурами показывают, что места где встречаются скопления колоний *C. benticum* с лопнувшими оболочками и рассыпавшимися клеточками, представляют собой в полном смысле слова пастбища для *Rhynchomonas* (рис. 3). Здесь *Rh. metabolita* находится в массовых количествах. Несмотря на скопление бактерий, он питается в основном клеточками *Coelosphaerium*. Жгутиконосцы буквально набивают ими свое тело. Часто можно видеть, как клетки *Rhynchomonas* снуют между колониями, клеточками и под колониями *Coelosphaerium* или скользят по поверхности колоний, как бы обтекая их своим телом или касаясь волочащимся бичом. Возможно, здесь скрыта одна из причин разрушения колоний водоросли. Свойство *Rhynchomonas* приклеиваться концом волочащегося бича к субстрату, вероятно, имеет биологическое значение как средство борьбы с придонными течениями.

Слизь и оболочки разрушающихся колоний, а также вещество мертвых клеток и фекалий жгутиконосца, по-видимому, служат источником питания для присутствующих здесь *Spirillum* и *Bacterium*. В условиях дефицита связанного азота эти бактерии *C. benticum*, очевидно, восполняют свои потребности в азоте за счет фиксации N_2 . Возможно, что *Rhynchomonas*, как и почвенные Protozoa, стимулирует размножение микробов и фиксацию ими азота. Взаимоотношения между *Rhynchomonas*, *C. benticum* и бактериями, вероятно, аналогичны таковым между *Azotobacter* и почвенными Protozoa — они включают элементы симбиоза (Федоров, 1952).

Количество микроорганизмов в пробах ила за время их хранения, несомненно, изменилось, и приводимые в таблице данные отличаются от таковых в природной обстановке. Однако, соотношения полученных величин могут указать на некоторые временные или постоянные связи, существующие между данными организмами в природной обстановке. Так, в пробах ила между количеством колоний и клеток *Coelosphaerium*, с одной стороны, и количеством клеток жгутиконосцев, с другой, всегда наблюдается прямо пропорциональная зависимость, а между количеством колоний и клеток *Coelosphaerium* и количеством клеток и микроколоний бактерий — обратно пропорциональная зависимость. К тому же, в илах, где *Coelosphaerium* отсутствовал, не были обнаружены и жгутиконосцы. Эти факты подкрепляют сложившееся представление, что предпочтительным объектом, а, возможно, и обязательным компонентом питания для *Rh. metabolita* в илах являются клеточки *C. benticum*. Приводимые в табл. II данные подтверждают также предположение о наличии напряженных отношений между олигонитрофильными *C. benticum* и бактериями. Эти отношения, очевидно, могут переходить в конкурентную борьбу за источники питания, в частности, за источники азота, что обуславливает временное угнетение одних форм другими.

Таблица II

Количественное содержание микроорганизмов в пробах ила

Район моря	№ станций	Расположение станций	Глубина в метрах	Характеристика грунта	Наименование организмов	Количество клеток и колоний в 1 кг ила
Тирренское море, район о. Стромболи	316	В 6 милях от о. Стромболи и в 24 милях от ближайшего берега Аппенинского п/о	1770	Ил песчаный с вулканическим пеплом, полужидкий грязно-желтовато-серого цвета	Coelosphaerium Rhynchomonas бактерии { Spirillum Bacterium	9500 2300 > 2380000 } > 2389500 9500
Центральный район восточной половины Средиземного моря	387	В 93 милях от о. Касос, в 95 милях от о. Родос, в 110 милях от берега Турции	2353	Ил фораминиферовый с примесью птеронидов, вязкий, полужидкий до мягкого, грязно-коричневато-желтый	Coelosphaerium подобные жгутиконосцы бактерии { Spirillum Bacterium	> 2380000 > 2330000 180000 } 182200 2200
То же	400	В 76 милях от берега Турции	2375	То же	Coelosphaerium Rhynchomonas Bodo и Pseudobodo— бактерии { Spirillum Bacterium	2300 2300 180000 } 2560000 2380000
Район между о. Кипр и заливом Искандерон в восточной части Средиземного моря	411	В 30 милях от о. Кипр, в 35 милях от берега ОАР (Сирийский район)	1162	Ил глинистый, с небольшим количеством фораминифер и обломками раковин птеронидов, вязкий, мягкий, пластичный, светло-коричневато-желтый	Coelosphaerium Pseudobodo— подобные жгутиконосцы бактерии { Spirillum Bacterium	9600 920 2800 } > 2382800 > 2380000

Coelosphaerium benticum (nov. sp.) и rhynchomonas metabolita (nov. sp.)

Coelosphaerium benticum (nov. sp.)

В жидкой среде Федорова для аэробных азотфиксаторов колонии *Coelosphaerium benticum* шаровидные и овальные, имеющие от 6 до 26 μ в поперечнике, или продолговатоовальные длиной до 32 μ , окружены ясно заметной бесструктурной слизистой бесцветной оболочкой толщиной до 2—3 μ . Количество клеток в колониях чаще больше 100, достигает 1000 и более. Встречаются и 5—10-клеточные колонии, имеющие 4—6 μ в поперечнике. Деление колоний происходит в двух приблизительно перпендикулярных направлениях, обычно без отделения колоний друг от друга. Это приводит к образованию на поверхности донного субстрата рыхлых слоистых пленок белого или серовато-белого цвета. В культуре пленки достигают площадью нескольких см² и толщиной — нескольких мм. Реже колонии единичны или соединены по 2—3. Оболочки старых колоний уплотнены, более резко очерчены и имеют желтовато-зеленоватый оттенок. Они легко лопаются, а клеточки высыпаются или частично остаются внутри колонии. Клеточки круглые или коротко-овальные от 0,5 до 2 μ в поперечнике. Содержимое их гомогенное. Клеточки расположены по периферии колонии рыхлым или плотным слоем в 1, 2 или 3 неправильных ряда. Газовые вакуоли отсутствуют. Сине-зеленых оттенков плазмы клеточек никогда не наблюдается. Спектрофотометрически и флуорескопически фикоцианин отсутствует, отмечаются лишь следы хлорофилла а. Облигатный гетеротроф. Одинаково хорошо растет на глюкозе как в темноте, так и на свету. В смешанной культуре с бактериями (*Spirillum*, *Bacterium*) и простейшими (*Rhynchomonas*), где *C. benticum* количественно доминирует, отмечается фиксация N₂, 6—9 мг N на 1 г использованной глюкозы. Служит объектом питания для жгутиконосца *Rh. metabolita* nov. sp.

Местообитание — морские глубоководные песчаные илы, иногда с вулканическим пеплом, и фораминиферовые илы на глубинах от 1100 до 2400 м.

Распространение — Тирренское море, восточная половина Средиземного моря.

Rhynchomonas metabolita (nov. sp.)

Морской бентический организм. Хорошо растет в культуре вместе с *Coelosphaerium benticum* в жидкой среде Федорова для аэробных азотфиксаторов. В условиях культуры размножается в больших количествах. От планктонных морских видов *Rhynchomonas* резко отличается мелкими размерами и морфологией. По размерам, морфологии и некоторым признакам иного порядка весьма сходен с пресноводными и морской формами *Rh. nasuta* (Stokes) Klebs. Однако сильно отличается от них ярко выраженным метаболизмом тела и сильной сжатостью его с боков. Сбоку тело имеет яйцевидное очертание и размеры 3,5—7 $\mu \times$ 2—4,5 μ (без хоботка), а со стороны «брюшка» или «спинки» — вид двояковыпуклой линзы толщиной от 1,0 до 2 μ . Движение хоботка очень оживленное, а перемещение монады с места на место весьма быстрое. Воложающийся бич может приклеиваться частью конечной длины к субстрату. Длина бича составляет от 7 до 10 μ . Никогда не удается увидеть, чтобы бич начинался и отходил вблизи хоботка. Предпочитает питаться мелкими (от 0,5 до 1 μ в диаметре) клеточками *Coelosphaerium benticum*, которые хорошо видны в теле жгутиконосца. Реже питается бактериями. Заглатывание совер-

шается при помощи движений хоботка. При заглатывании и при дефекации тело передвигается быстрее и сильно метаболирует. Встречается в илах Средиземного моря на глубине от 1.100 до 2.400 м.

Автор выражает признательность профессору А. Е. Криссу за ценные советы и профессору А. А. Красновскому за консультацию.

ВЫВОДЫ:

1. Описаны новый вид водоросли *Coelosphaerium benticum* (Cyano-phyceae) и новый вид жгутиковой хоботковой монады (*Rhynchomonas metabolita* (Protozoa)), обитающие совместно в глубоководных илах Средиземного моря.

2. *C. benticum* не развивается на минеральных солях фотоавтотрофно, но растет на глюкозе одинаково хорошо как в темноте, так и на свету, являясь облигатным гетеротрофом. Фикоционина не содержит. При культивировании и на свету и в темноте содержит лишь следы хлорофилла.

3. *Rh. metabolita* питается предпочтительно клеточками *C. benticum*. Потребляет в пищу также бактерии, но значительно реже.

4. На безазотистой жидкой среде Федорова с глюкозой в процессе пересевания складывается устойчивый комплекс организмов: *Coelosphaerium* — *Rhynchomonas* — *Spirillum* — *Bacterium*, в котором количественно обычно доминирует *Coelosphaerium* и редко *Spirillum*.

5. *C. benticum*, очевидно, принимает прямое, а *Rh. metabolita* — косвенное участие в процессе азотфиксации в илах. За 6 месяцев при 22—25°C смешанные культуры фиксировали 6,87 и 9,39 мг N на 1 г использованной глюкозы. *Rh. metabolita*, вероятно, как и некоторые почвенные Protozoa, стимулирует рост и фиксацию азота у водоросли и бактерий.

6. Между *Coelosphaerium* и бактериями наблюдаются напряженные отношения, которые могут обостряться, что выражается во временном угнетении одних форм другими. Являясь олигонитрофилами, они, очевидно, конкурируют между собой за азот и другие источники питания.

ЛИТЕРАТУРА:

- Бершова О. И., Радзімовський Д. О., Сотникова О. В., 1958. Вивчення «синьо-зелених водоростей», що утворюють обростання в київському артезіанському водопроводі, та розроблення методів боротьби з ними. Мікробіол. ж. АН УРСР, XX, вiп. I, 68.
- Голлербах М. М., Косинская Е. К., Полянский В. И., 1953. Определитель пресноводных водорослей СССР. Вып. 2. Синие-зеленые водоросли. Гос. изд-во «Советская наука», М., 115—119.
- Драчев С. М., Разумов А. С., Бруевич С. В., Скопинцев Б. А., Голубева М. Т., 1953. Методы хим. и бakt. анализа воды. Медгиз, М.

- Еленкин А. А., 1936. Сине-зеленые водоросли СССР. Изд-во АН СССР, М.—Л.
- Еленкин А. А., 1938. Сине-зеленые водоросли СССР. Вып. I. Изд-во АН СССР, М.—Л.
- Косинская Е. К., 1948. Определитель морских сине-зеленых водорослей. Изд-во АН СССР, М.—Л.
- Крисс А. Е., 1959. Морская микробиология (глубоководная). Изд-во АН СССР, М.
- Омелянский В. Л., 1923. Связывание атмосферного азота почвенными микробами. Избр. тр., т. I, 175—336. Изд-во АН СССР, М., 1953.
- Пицък Г. К., 1951. О фитопланктоне Азовского моря. Тр. АзЧерНИРО, вып. 15, 313—330.
- Пицък Г. К., 1955. Фитопланктон Азовского моря в условиях зарегулирования стока р. Дона. Тр. АзЧерНИРО, вып. 16, 279—310.
- Пицък Г. К. 1956. Новая форма *Aphanizomenon* Азовского моря. Бот. мат-лы отдела споров, растений, т. XI. Изд-во АН СССР, М.—Л., 27—29.
- Радзимовський Д. О., 1958. Про два нових види синьо-зелених водоростей з київського артезіанського водопроводу. Мікробіол. журн., т. 20, № 3, 18—23.
- Усачев П. И. 1927. О фитопланктоне Азовского моря. Сборник в честь проф. Н. М. Книповича, 1885—1925. М.
- Федоров М. В., 1952. Биологическая фиксация азота атмосферы. Сельхозгиз, М.
- Федоров М. В. и Калининская Т. А., 1959. Азотфиксирующая активность смешанных культур олигонитрофильных микроорганизмов. Микробиология, т. 28, вып. 3, 343—351.
- Холодный Н. Г., 1949. Среди природы, вып. 15. Изд-во Моск. об-ва испыт. природы, М., 78—84 и 84—91.
- Aleem, A. A., 1950. Some Cyanophyceae from Eastern Mediterranean (Contrib. Marine Botan. Inst. No 6). Meddelanden from Göteborgs botaniska trädgård, XVIII, 303—306.
- Beijerinck, M. W. 1901. Ueber oligonitrophile Mikroben. Ctrbl. f. Bakt. Abt, 2, Bd. 7, 561.
- Bélar, K., 1916. Protozoenstudien. I. Archiv für Protistenkunde, Bd. 36, 14—51.
- Bernard, F., 1956. Eaux atlantiques et méditerranéennes au large de l'Algérie. II Courants et Nannoplankton de 1951 à 1953 Annales de L'Institut océanographie et d'étude des côtes de l'Algérie. Publication, No 34.
- Fogg, G. E., 1947. Nitrogen fixation by blue-green algae. Endeavour, Vol. VI, No 24, 172—175.
- Fogg, G. E., 1956. Nitrogen fixation by photosynthetic organisms. Ann. review of plant physiol., Vol. 7, 51—70.
- Fritsch, F. E., 1945. The structure and reproduction of the Algae, Vol. II.
- Griessmann, K., 1914. Über marine Flagellaten. Archiv für Protistenkunde, Bd. 32, 1—78.
- Klebs, G. 1892. Flagellaten—Studien I—II. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 55, 265.
- Lohmann, H., 1920. Die Bevölkerung des Ozeans mit Plankton nach den Ergebnissen der Zentrifugenfänge während der Ausreise der «Deutschland» 1911—Zugleich ein Beitrag Zur Biologie des Atlantischen Ozeans. Archiv für Biontologie, Vierter Band (1916—1919), 1—617.
- Parisi, B., 1910. Su alcuni flagellati endoparasiti. Archiv für Protistenkunde, Bd. 18, 232—238.
- Stokes, A. 1888. A preliminary contribution towards a history of the United States. Journ. of the Trenton Nat. Hist. Soc. Vol. I.

Coelosphaerium benticum (nov. sp.) и *rhynchomonas metabolita* (nov. sp.)

- Trégouboff, G., 1957. Manuel de Planctonologie Méditerranéenne. Tome I, Paris.
- Watanabe, A., Nishigaki S. and Konishi C., 1951. Effect of Nitrogen—fixing Blue-Green Algae on the Growth of Rice Plants. Nature, Vol. 168, No 4278, 748—749.
-