

Л. Н. ПШЕНИН

ОБ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЯХ ПРИПОВЕРХНОСТНОГО СЛОЯ ВОДЫ В ЧЕРНОМ МОРЕ

Приповерхностный слой воды (порядка нескольких сантиметров) находится в непосредственной близости к разделу вода—воздух и характеризуется повышенной световой радиацией. Это обстоятельство, казалось бы, должно вызывать мысль об угнетении в этом слое бактериальной жизни. Однако из многочисленных данных по распределению гетеротрофных бактерий в воде морей и океанов, полученных проф. А. Е. Криссом и его сотрудниками, а также другими исследователями (Крисс, 1959), можно видеть, что в верхнем слое морской воды (от 0 до 10 м) гетеротрофы чаще встречаются в более значительных количествах на нулевом горизонте, чем на глубине 10 м. Наблюдения за общим содержанием бактерий на разных глубинах в Черном море, проведенные М. Н. Лебедевой (1958), с применением метода прямого счета показали, что солнечный свет в часы максимальной радиации не оказывает заметного действия на численность бактерий поверхностного слоя воды, по сравнению с численностью их в другое время суток. Для пресных водоемов есть указания о полной жизнеспособности бактерий, обитающих в поверхностной пленке воды (Заварзин, 1955; Welch, 1935). Все это свидетельствует о том, что в приповерхностном слое воды, несмотря на максимальное действие света, создаются условия чаще всего более благоприятные для развития бактериальной жизни, чем на нижележащем 10-метровом горизонте. В связи с вышеизложенным представляет интерес выяснить, существует ли различие в количественном содержании микроорганизмов, принадлежащих к отдельным физиологическим группам, в приповерхностном слое воды, по сравнению с ближайшими стандартными горизонтами. Задача данной работы: получить представление о численности азотфиксирующих бактерий в этих слоях воды в Черном море с учетом ветрового волнения.

С этой целью летом 1956 г. в северо-западной и восточной областях Черного моря пробы воды с поверхностного горизонта отбирались не батометром или стерильными склянками, как это производилось нами ранее (Л. Н. Пшенин, 1959, 1961), а специально изготовленным для этой цели черпаком с вставляющимся в него стерильным стаканом. Перед употреблением черпак обжигался пламенем и закрывался пружинящей крышкой. С нижележащих горизонтов пробы воды отбирались батометром. По сравнению с батометром, черпак обеспечивает отбор проб воды из более тонкого, близкого к нулевому горизонту, слоя воды. Чер-

пак забирает 3—5-сантиметровый слой воды вместе с поверхностной пленкой.¹ При отборе проб соблюдались предосторожности против загрязнения, связанного с близостью борта корабля, учитывалось направление ветра.

Количество бактерий определялось методом титров. Пробы воды сеялись немедленно после их взятия в количествах 100, 10,1 и 0,1 мл в жидкие среды Федорова — для аэробных и Виноградского — для анаэробных азотфиксаторов. Посевы выдерживались в течение 6 и более месяцев при комнатной температуре и за этот период неоднократно (от 3 до 10 раз) в различные сроки тщательно микроскопировались. Титры и индексы бактерий определялись при помощи специальных таблиц (Драчев и соавторы, 1953). Следует подчеркнуть, что полученные индексы азотобактера представляют собой явно заниженные величины, так как выражают не только количества единичных бактериальных клеток, а суммарные количества клеток и микроколоний в 1 л воды. Микроколонии азотобактера существуют в водной толще на взвешенных частицах органического материала (Пшенин, 1961) или в виде псевдодооگلей (Копп и Лимберг, 1945) вследствие очагового распределения органического вещества в морской воде (Крисс, Е. А. Рукина и Бирюзова, 1951). Выделенные штаммы азотобактера, клостридиума и других азотфиксаторов испытывались на азотфиксирующую способность микрометодом Кьельдаля. Анализируемые посевы выращивались в течение месяца при 30°C в эксикаторах, заполненных регулярно обновляемым воздухом, который при этом очищался от примесей аммиака и окислов азота.

Посевы водой, взятой в восточной половине Черного моря, дали довольно четкие результаты. При штиле и относительно спокойной погоде азотобактер чаще всего встречался в наибольших количествах в приповерхностном слое воды (табл. 1). Так, на станциях 1, 2 и 5 разреза Батуми—Ялта во время волнения от 1 до 2 баллов и при ветре от 0 до 2 баллов концентрация азотфиксаторов в приповерхностном слое воды всегда выражалась в значительно больших величинах, чем на 25 метрах, и составляла тысячи и более клеток и микроколоний в 1 л. При волнении в 2 балла и ветре в 3 балла (станция 4) перераспределения концентраций бактерий на этих горизонтах также не происходило, так как различие в количественном содержании азотобактера на 0 и 25 м оставалось столь же большим. Однако при 3 баллах волнения и 3 баллах ветра (станция 3) количество азотобактера в приповерхностном слое понизилось в сто раз. Подобная картина наблюдалась и в северо-западной части Черного моря в районе Филлофорного поля Зернова в июле 1956 (Пшенин, 1959), где пробы воды также отбирались черпаком. По нашим данным, даже там, где поверхностные пробы воды брались стерильными склянками (северо-западная часть, август 1955 г.) или батометром (западная половина моря, февраль 1956 г.), азотобактер в «нулевом» горизонте обнаруживался в больших количествах и наиболее регулярно, по сравнению с нижележащим стандартным горизонтом. Судя по распределению азотобактера и клостридиума на горизонтах 0 м и 5—25 м на станции 4 (табл. 1) и станции 3 (Пшенин, 1959, табл. 1), где пробы воды были взяты сразу же после сильного волнения, в период

¹ Возможно, что вместе с поверхностной водой в черпак попадала нейстонная пленка (Naumann, 1917), если она имеется в море в момент взятия проб на той или иной станции.

Таблица 1.

Распределение *Azotobacter* и *Clostridium* в приповерхностном и нижележащих слоях воды восточной половины Черного моря. Август 1956 г.

(Количество клеток и микроколоний в 1 л воды)

Глубина в м	Станция I 41 миля от берега		Станция II 71 миля от берега		Станция III 70 миль от берега		Станция IV 80 миль от берега		Станция V 33 мили от берега	
	<i>Azotobacter</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Azotobacter</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Azotobacter</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Azotobacter</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Azotobacter</i>	<i>Clostridium</i>
0	2380	23	> 2380	< 9	23	< 9	2380	23	2380	23
25	< 9	< 9	23	< 9	2380	< 9	23	< 9	23	< 9
50	> 2380	< 9	< 9	< 9	> 2380	< 9	23	< 9	23	< 9

наступившего штиля количество бактерий в приповерхностном слое воды быстро нарастает.

Микроскопирование бактериального роста в пленке, жидкости и осадке, как в живом, так и фиксированном виде, показало, что на «нулевом» горизонте обитает большее разнообразие микробных форм, чем на отдельных нижележащих горизонтах. В специфических средах для азотфиксаторов, засеянных поверхностной водой из открытых районов северо-западной и восточной областей Черного моря летом 1956 г., наблюдались следующие организмы: азотобактер, клостридий, вибрионы, спириллы и спирохеты, палочки различных размеров и форм, кокки и коккоиды, дрожжи и плесневые грибы. Подавляющее большинство среди микробов, находимых в первоначальных посевах, как правило, составляли не азотобактер и клостридий, а другие формы. Не только при наличии азотобактера, но и при его отсутствии смесь микробов из приповерхностного слоя воды всегда давала более мощный рост, по сравнению с ростом в посевах воды, взятой из нижележащих слоев. Кроме целого ряда штаммов *Azotobacter chroococcum* и *A. agile*, из приповерхностного слоя воды Черного моря было выделено несколько штаммов палочек, коккоидов и спирилл, которые, как показали анализы, способны фиксировать молекулярный азот в следующих количествах: *Azotobacter* — 4,67—9,37 мг, *Clostridium* — 0,83 мг, коккоиды (или короткие неспоронные палочки) — 4,42 мг и *Spirillum* — от 1,84 до 16,12 мг N на 1 г использованной глюкозы. С завершением работ по изучению морфологии, цикла развития и видового состава этих бактерий представится возможность дифференцированно оценить их количественное содержание в водной толще моря методом титров. Причины, обуславливающие весьма характерное количественное распределение в верхних слоях воды бактерий вообще и азотфиксаторов в частности, несомненно, сложны, однако можно полагать, что такое распределение отчасти объясняется стимулирующим действием, как и на пресноводные бактерии (Заварзин, 1955), близости поверхности раздела вода—воздух, хорошей аэрацией и возможным наличием здесь различных источников углерода. Воздух является источником газообразных форм азота, углерода и других элементов, летучих органических веществ, минеральной и органической взвеси в виде пылинок почвы и иных частиц наземного происхождения. Поэтому возможно также, что в жизни морских микроорганизмов, обитающих в приповерхностном слое воды, известную роль играет так называемое воздушное питание (Холодный, 1945; Калининко, 1957).

Таким образом, на основании данных по количественному распределению азотфиксирующих бактерий в верхних слоях воды Черного моря можно полагать, что в масштабах всей акватории Черного моря азотфиксирующие бактерии приповерхностного слоя воды играют заметную роль в обогащении связанным азотом верхнего слоя воды.

ЛИТЕРАТУРА:

- Драчев С. М., Разумов А. С., Бруевич С. В., Скопинцев Б. А., Голубева М. Т., 1953. Методы химического и бактериологического анализа воды. Медгиз.
- Заварзин Г. А., 1955. Бактериальное население поверхностной пленки воды в естественных водоемах дельты Волги. Тр. Ин-та микробиологии, в. IV.
- Калининко В. О., 1957. Размножение гетеротрофных бактерий в дистиллированной воде (к вопросу о хемоавтотрофности у бактерий). Микробиология, т. XXVI, в. 2.

- Крисс А. Е., Рукина Е. А. и Бирюзова В. И. 1951. Микрозональность в распределении гетеротрофных микроорганизмов в море. Микробиология, т. XX, в. 3.
- Крисс А. Е., 1959. Морская микробиология (глубоководная). Изд-во АН СССР, М.
- Копп Ф. И. и Лимберг Е. Л., 1945. Микробиологические исследования озер Северного Казахстана. Микробиология, т. XIV, в. 4.
- Лебедева М. Н., 1958. Экологические закономерности распределения микроорганизмов в Черном море. Тр. Севаст. биол. ст. АН СССР, т. X.
- Пшенин Л. Н., 1959. Количественное распределение азотфиксирующих бактерий и их экология в районе Филлофорного поля Зернова в Черном море. Микробиология, т. XXVIII, в. 6.
- Пшенин Л. Н., 1961. О связях между азотобактером и фитопланктоном в Черном море. Тр. Севаст. биол. ст. АН СССР, т. XIV.
- Холодный Н. Г., 1945. О воздушном питании почвенных микроорганизмов. Микробиология, т. XIV, в. 4.
- Naumann E. 1917. Über das Neuston des Süßwassers. Biol. Centralbl., B. 37, N 2.
- Welch P. S., 1935. Limnology. New-York.
-