

ПРОБ 2010

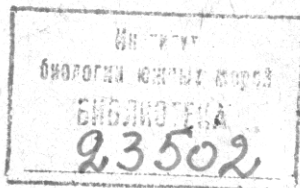
АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ им. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

БИОЛОГИЯ МОРЯ

Вып. 21

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
В КРАСНОМ И АРАВИЙСКОМ МОРЯХ

Республиканский межведомственный сборник



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКОВА ДУМКА»

КИЕВ — 1970

K r i s s A.E., L e b e d e v a M.N. a. T s i b a n A.V. Comparative estimate of a Nansen and Microbiological water bottle for sterile collection of water samples from depths of seas and oceans. - Deep-Sea Research, 13, 1966.

C a s t e l l v i J. Ciclo de las bacterias planctónicas marinas en la costa Catalana. - Investigación Pesquero, 31 (3), Barcelona, 1967.

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ ПО ФОСФАТНОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ В КРАСНОМ МОРЕ

Э.Я.Анищенко-Россова

Фосфор является одним из основных биогенных элементов, определяющих развитие жизни в водоемах. Соединения фосфора, входя в состав протоплазмы и ядерного вещества клеток, регулируют такие важные энергетические процессы как дыхание, фотосинтез, обмен веществ.

Содержание растворимого минерального фосфора в воде невелико, т.к. он поглощается из воды живыми организмами и илом /Coffin и др., 1949/; большая часть фосфора в воде находится в виде минеральных и органических соединений, трудноусвояемых растениями.

Большая роль в мобилизации различных соединений фосфора принадлежит организмам, в частности бактериям, которые при помощи ферментов фосфатаз растворяют труднорастворимые соединения фосфора, кальция, магния, железа, алюминия или минерализуют органические соединения фосфора: фосфолипиды, нуклеопротеины, РНК, ДНК и другие, превращая их в формы, доступные для фитопланктона /ZoBell, 1946/.

Изучение роли бактерий в мобилизации фосфора в пресных водоемах /реках, озерах, прудах/ проводилось рядом исследователей /Салимовская-Родина, 1940; Мосевич и Данилевич, 1955; Гак, 1959, 1960/. Работы Д.З. Гака, проведенные на прудах и озерах Прибалтики, дают представление о количественном содержании, физиологиче-

ской активности и систематическом составе мобилизующих фосфор бактерий /как фосфатрастворяющих, так и мобилизующих органические соединения фосфора/. По ее данным, содержание в воде фосфатрастворяющих микроорганизмов колебалось в пределах 20-4440 кл/мл, а в грунтах - 5 - 324 тыс. кл/г сырого веса; минерализующие органофосфаты бактерии, содержались в еще большем количестве - от 80 до 32000 кл/мл воды и от 20 до 2640 тыс. кл/г влажного грунта.

Активность растворения трехкальциевого фосфата у исследованных культур колебалась от 0,12 до 3,12 мг-ат Р/л, а минерализации лецитина с выделением свободной фосфорной кислоты - от 0,07 до 4,2 мг-ат Р/л. При определении видового состава наиболее активные штаммы фосфатрастворяющих бактерий были идентифицированы как *Pseudomonas radiobacter*, *Ps. caudata*, а группы минерализующих органофосфаты отнесены к *Pseudomonas longa*, *Ps. turcosa*, *Ps. liquefaciens*, *Bacterium candicans*, *Bact. cohaerens*, *Rhodotorula* sp.

Самую высокую активность показали штаммы, определенные как *Chromobacterium flavum* /до 4,2 мг-ат Р/л/.

В морской среде в связи с деятельностью бактерий регенерацию фосфатов изучали: К.Е. Ренн /Renn, 1937/, Д.М. Прайт /Pratt, 1950/, В. Цвиич /Cvilić, 1956/, Ф.Р. Хайез /Hayes, 1963/ и др.

Р.Ж. Морита и Р.А. Хове /Morita a. Howe, 1957/ определяли фосфатазную активность у морских бактерий под давлением, используя реактив нитрофенилфосфат. У одних бактерий с увеличением гидростатического давления фосфатазная активность увеличивалась, у других - уменьшалась и у третьих - оставалась на одном уровне. Данные по фосфатазной активности у десяти видов бактерий приводятся в микромолях фосфатов, образуемых при соответствующем гидростатическом давлении и составляющих 0,004-3,3 μ M PO_4 . Фактор, определяющий фосфатазную активность бактерий под давлением пока остался невыясненным. В настоящей работе сделана попытка изучения фосфатазной активности у бактерий /минерализующих органические соединения фосфора/, выделенных с различных глубин Красного моря. Приводятся данные их количественного распределения в воде, а также физиологическая активность и систематическая принадлежность наиболее активных штаммов.

Количественное распределение бактерий, минерализующих ор-

ганофосфаты, исследовали осенью 1963 г. на э/с "Академик Ковалевский" по двум разрезам: продольному /27-13° с.ш./ и попе-
речному /37-39° в.д./. Из десяти исследованных станций девять-
глубоководные /с глубинами 500-2300 м/ и одна /ст.38/ - мел-
ководная - 33 м /рис.1/.

Пробы воды отбирали со стандартных гидрологических гори-
зонтов батометрами Нансена. Из каждой стерильно отобранной
пробы воды по 1 мл/в двух повторностях/ высевали на пластинки
с агаровой средой /измененная среда Менкиной/. Состав среды
следующий: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 0,5 г, CaCO_3 - 10 г, глюкоза - 20 г,
микроэлементы FeSO_4 , MgSO_4 - следы, агар выщелоченный -
1,8 г, безфосфатная морская вода исследуемого водоема /пред-
варительно профильтрованная через мембранный фильтр №5/ -
1000 мл. Органический источник фосфора - РНК, простерилизо-
ванный путем холодной фильтрации через мембранный фильтр, вно-
сили стерильно в готовую среду из расчета 10 мг-ат фосфора
на литр среды /рН простерилизованной среды 7,5-8/. Чашки с
посевами инкубировали при температуре 27-30° С в течение
5-7 дней, затем подсчитывали выросшие колонии. Из кислото-
образующих колоний делали отсевы в пробирки со скошенным
агаром того же состава.

Фосфатазную активность предварительно определяли на твер-
дых средах путем заливки чашек с выросшими колониями ага-
ризованной средой с фенолфталеинфосфатом натрия, который под
воздействием фосфатазы микроорганизмов расщепляется на фос-
фат и фенолфталеин, окрашивающийся в щелочной буферной среде
в красный цвет. По интенсивности красной окраски среды вокруг
колоний и по величине зоны можно судить об активности фосфа-
тазы, вырабатываемой микроорганизмами /Красильников и Коте-
лев, 1957/.

Указанным методом было выделено 90 штаммов, из которых
45 наиболее активных чистых культур отобрано для дальнейше-
го изучения.

Физиологическую активность на жидких средах в чистых
культурах бактерий определяли на жидкой среде того же соста-
ва, что и твердая, но без добавления меда. Органический
источник фосфора перед внесением в среду проверяли на содер-

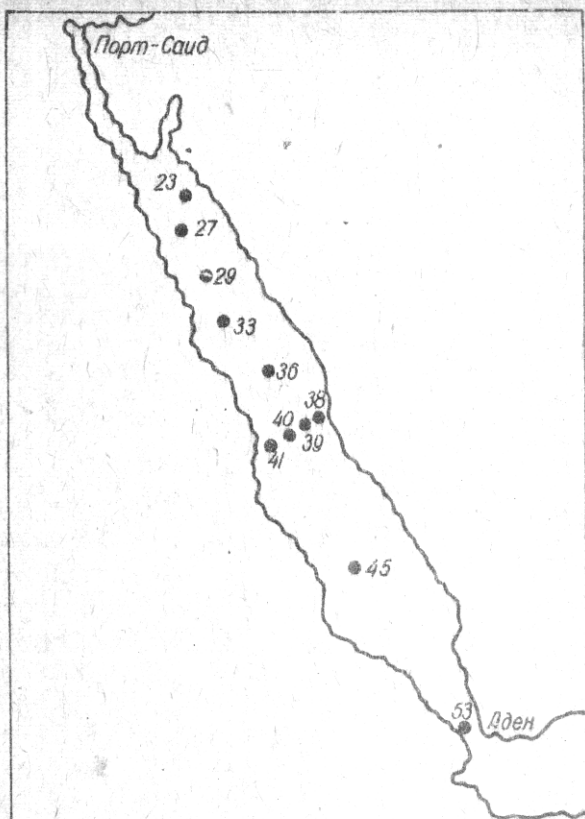


Рис. I. Схема станций.

ление растворимых фосфатов. Рибонуклеиновая кислота, использованная нами в опыте /английский препарат/, была очень высокого качества — фосфаты ни разу не были обнаружены в начале опыта. Колбочки со 100 мл жидкой среды засеивали чистыми культурами бактерий и выдерживали в термостате при 27-30° С в течение 15-20 суток. На 14-15-е, а иногда 20-е сутки, содержание фосфатов в опытах определяли по методу Ж.Марфи и Ж.Р.Райли /Marpha a. Riley 1962/ на ФЭК-М относительно контроля, кото-

рым служила стерильная среда с РНК /выдерживаемая в термостате вместе с опытными колбами/.

При определении систематической принадлежности культур был использован определитель Н.А.Красильникова /1949/.

Бактерии, минерализующие органические соединения фосфора, обнаружены на всех исследованных станциях. Их численность колебалась в пределах 0-2560 кл/мл. На большинстве станций /29, 33, 36, 38, 39, 40/ зарегистрированы преимущественно сотни и тысячи клеток в 1 мл. Реже эти бактерии встречались в северной части моря /ст. 23/, где они зафиксированы лишь на глубинах 0, 10, 25, 200 м. В южной части моря они отмечены в минимальных количествах /0-58 кл/мл/.

Характер распределения бактерий, разлагающих органические соединения фосфора, как по акватории, так и по глубинам, в общих чертах согласуется с распределением сапрофитных бактерий, выращенных на МПА методом проращивания фильтров^х /Разумов, 1931 /. Об этом свидетельствует тот факт, что высокие числа этих микроорганизмов отмечены именно в тех слоях воды, в которых обнаружены большие количества сапрофитов, а именно: в зоне фотосинтеза - 0-75 м и в глубинном слое - 150-300, 400 м /Анищенко, 1967/ /рис.2/.

Изучение морфологии бактерий, минерализующих ортофосфаты показало, что они относятся к группе неспоросных палочек. При определении их систематической принадлежности наибольшее количество культур /38% было идентифицировано с видом *Bacterium agile*. Виды *B. halophilum* и *B. album* представлены равным числом штаммов /20%/. Культуры, отнесенные к видам *Pseudomonas liquefaciens* и *Ps. epsteinii*, составили 15 и 7% соответственно.

Результаты определения физиологической активности культур на жидких средах /отщепление фосфорной кислоты от РНК/ сведены в таблицу. Наибольшей активностью фосфатаз отличались культуры вида *Pseudomonas liquefaciens*, минерализовавшие за 15-20

х/Метод проращивания фильтров дает заниженные результаты по сравнению с методом посева в агар, поэтому сопоставляются не абсолютные величины, а лишь закономерность распределения с глубиной.

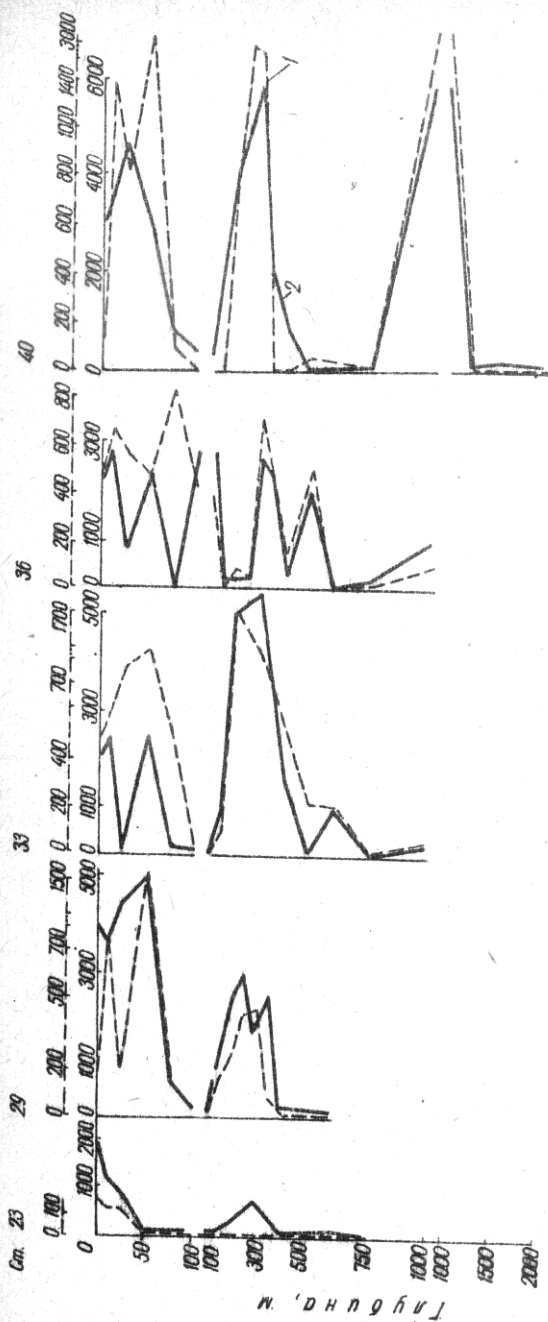


Рис. 2. Вертикальное распределение бактерий, разлагающих органические соединения фосфора /1/ и гетеротрофных /2/ по станциям продольного разреза в Северной части Красного моря.
/1 - количество бактерий в 1 мл, 2 - количество бактерий в 40 мл/.

суток опыта до 44% фосфора РНК. Значительно меньшую фосфатазную активность показали штаммы вида *Bacterium halophilum* /9-23%/ и слабую - виды *B. agile*, *B. album* / 2,8-9% и 0,6-9% фосфора РНК соответственно/.

Активность отщепления фосфорной кислоты от РНК различными видами бактерий, выделенными в Красном море

Номер штамма	Вид бактерий	Количество H_3PO_4 , мг-ат Р/л		% минерализованного фосфора РНК от исходного
		Продолжительность опыта, сутки		
		14-15	20	
29	<i>Bacterium album</i>	0,1	0,17	1,7
64	" "	0,0	0,06	0,6
91	" "	0,27	1,1	11,0
7	<i>Bac. agile</i>	0,0	0,37	3,7
53	" "	0,52	0,9	9,0
58	" "	0,52	0,74	7,4
63	" "	0,0	0,4	4,0
67	" "	0,0	0,28	2,8
74	" "	0,0	0,4	4,0
45	<i>Bac. halophilum</i>	0,94	-	9,4
60	" "	2,35	-	23,5
87	" "	1,9	-	19,0
33	<i>Pseudomonas liquefac</i>	0,6	3,6	36,0
41	" "	2,8	4,4	44,0
38	<i>Ps. epsteinii</i>	0,98	3,35	33,0
	Контроль	0,0	Следы	-

Следует отметить, что в процессе длительного хранения в коллекции /с 1963 по 1967 гг./ культуры, вероятно, несколько снизили свою первоначальную активность и поэтому данные их физиологической активности, приведенные в таблице, следует считать несколько заниженными.

Мы лишены возможности сопоставить данные Р.Ж.Морите и Р.А. Хове /1957/ с нашими, в виду больших различий в методике проведения анализов. Кроме того, указанные авторы определяли фосфатазную активность у видов морских бактерий, отличных от наших. Других работ такого характера, судя по доступной нам литературе, не проводилось.

Идентичность методик, использованных в исследованиях нами и Д.З. Гак /1959/ на пресных водоемах, дает нам некоторое основание для сопоставления данных, несмотря на большие отличия в средах обитания изучавшихся микроорганизмов.

В целом можно заключить, что и в пресных и морских водоемах активные по фосфатазе бактерии относятся к группе непорочных палочек. Однако по видовому составу эти бактерии различаются. Общим в различных условиях обитания оказался вид *Pseudomonas liquefaciens*. Пресноводный штамм проявил более низкую активность по сравнению с морским /1,2 против 3,6 и 4,4 мг-ат Р/л/, что, возможно, обусловлено различием использованных источников фосфора /лецитин и РНК/.

Пользуюсь случаем выразить глубокую благодарность Д.З.Гаку за консультации по методическим вопросам.

В ы в о д ы

1. Бактерии, минерализующие органические соединения фосфора /РНК/, обнаружены на всех исследованных станциях в Красном море, их численность колебалась от 0 до 2560 клеток в 1 мл.

2. Характер распределения этих микроорганизмов как по акватории, так и по глубинам согласуется с распределением сапрофитных бактерий.

3. 45 штаммов бактерий, активных по фосфатазе, отнесены к видам: *Bacterium agile*, *B. album*, *B. halophilum*, *Pseudomonas liquefaciens*, *Ps. ersteinii*. Самая высокая активность отщепления фосфорной кислоты от РНК (4,4 мг-ат Р/л) зафиксирована у штаммов вида *Ps. liquefaciens*.

4. Наличие фосфатаз у таких широко распространенных в морях и массовых видов гетеротрофных бактерий, как *Bacterium agile*, *B. halophilum* и *B. album*, дает основание полагать, что процесс минерализации органических соединений фосфора достаточно широко осуществляется в морских условиях.

Л и т е р а т у р а

А н и щ е н к о Э.Я. Количественное распределение гетеротрофных бактерий в Красном море и Аденском заливе в осенний период. - Гидробиол., 3, 3, 1967.

Г а к Д.З. Физиологическая активность и систематическое положение мобилизующих фосфор микроорганизмов, выделенных из водоемов Прибалтики. - Микробиология, 28, 4, 1959.

Г а к Д.З. Микробиальные процессы мобилизации фосфора в удобряемых рыбоводных прудах. - Автореф. канд. дисс. К., 1960.

К р а с и л ь н и к о в Н.А. и К о т е л е в В.В. Качественное определение фосфатазной активности некоторых групп почвенных микроорганизмов. - ДАН СССР, 117, 5, 1957.

К р а с и л ь н и к о в Н.А. 1949. Определитель бактерий и актиномицетов. Изд-во АН СССР, М., 1949.

М о с е в и ч М.В. и Д а н и л е в и ч В.М. Роль биохимических процессов в круговороте фосфора в водоемах. - Изв. ВНИОРХ, 34, 1, 1955.

Р а з у м о в А. Прямой метод учета бактерий в воде. Сравнение его с методами Коха. - Микробиология, 1, 2, 1932.

С а л и м о в с к а я - Р о д и н а А.Г. К мобилизации фосфатов в водоемах. - Микробиология, 9, 5, 1940.

C o f f i n C.C., H a y e s F.R., J o d g e y L.H., W h i t e w a y S.G. Exchange of materials in a lake as studied by the addition of radioactive phosphorus. - Canad. J. Res., s. D., 27, 4, 1949.

O v i i c V. Activity of bacteria in the liberation of phosphate from the Sea sediments in bottom water. - Acta Adriatica, 8, 1, Split. 1956.

H a y e s F.R. The role of bacteria in mineralization phosphorus in Lakes. - Symp. Mar. Microbiology, Illinois, 1963.

M o r i t a R.J. a. H o w e R.A. Phosphatase activity of marine bacteria under hydrostatic pressure. - Deep-Sea Res., 4, 4, 1957.

M u r p h y J.a. R i l e y J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. - Anal. Chim. Acta, 27, 1, 1962.

P r a t t D.M. Experimental study of the phosphorus cycle in fertilized sea water. - J. Mar. Res., 9, 1, 1950.

R e n n C.E. Bacteria and phosphorus cycle in the sea. - Biol. Bull., 72, 1, 1937.

Z o B e l l C.E. Marine microbiology. - Waltham, Mass., U.S.A., 1946.

О ПЕРВИЧНОЙ ПРОДУКЦИИ КРАСНОГО МОРЯ И АДЕНСКОГО ЗАЛИВА

Н.Н.Хмелева

Количественные данные, характеризующие интенсивность новообразования органического вещества фитопланктоном в Красном море и Аденом заливе, крайне ограничены. Непосредственные определения первичной продукции по интенсивности фотосинтеза в этих районах не проводились. Имеются лишь некоторые величины, рассчитанные по содержанию хлорофилла /Yentsch, Wood, 1961, цит. по Neumann, McGill, 1962/ и по суточному приросту клеток водорослей /Кондратьева, 1967/, причем первое из них относится к весенне-летнему сезону /май - июнь 1958 г./ и выполнено на 5 станциях в Красном море и 3 - в Аденом заливе. Наблюдения второго автора относятся к зимнему периоду /декабрь - январь 1962 г./ и основаны на двух суточных определениях в Красном море и одном - в Аденом заливе. После исследований, описанных в настоящей статье, в период смены зимнего муссона на летний / в мае/ были сделаны два измерения первичной продукции радиоуглеродным методом на входе в Аденомский залив и между м.Гвардафуи и о.Сокотра /Заика, Гордина, Ковалева, Кузьменко, 1967/.