

ГИДРОБИОЛОГИЯ

А. Г. САЛИМОВСКАЯ-РОДИНА

**БАКТЕРИИ И ДРОЖЖЕВЫЕ ГРИБКИ КАК ПИЩА ДЛЯ
*CLADOCERA (DAPHNIA MAGNA)***

(Представлено академиком С. А. Зерновым 13 VI 1940)

Продуктивность водоема тесно связана с имеющимися в нем запасами питания. Количество ихтиофауны в водоеме определяется в основном биомассой беспозвоночных, которая в свою очередь обусловливается запасами пищевого материала⁽²⁾. Поэтому является весьма существенным выяснение условий питания в водоеме всех членов пищевых цепей.

К числу сложных и спорных до настоящего времени проблем питания водных организмов относится и проблема питания зоопланктона, в которой наименее освещенной является роль микроорганизмов—бактерий и различных грибов. Исследования последнего времени показали, что вода озер содержит огромные количества бактерий, в сотни и тысячи раз превышающие цифры, получавшиеся ранее при прежних методах бактериологического анализа^(3, 5, 6, 7), следовательно, и биомасса бактерий в озерах во много раз больше, чем считалось до сих пор. Детрит, рассматриваемый для многих групп зоопланктона (*Cladocera*, *Copepoda*) как основной источник питания⁽⁴⁾, содержит колоссальные скопления бактерий. В пищевой тракт *Cladocera*, механически захватывающих пищу путем фильтрации воды, неизбежно должны поступать с водой и детритом в большом количестве бактерии. Исследования содержимого кишечного тракта *Sidae*, произведенные мной после удаления бактерий с поверхности их тела путем длительного ряда промываний, подтвердили это, показав постоянное наличие живых бактерий в пищеводе. Вопрос, используют ли *Cladocera* эти бактерии как питательный материал, мог быть решен лишь путем точной экспериментальной работы. В литературе нам известны всего две попытки решения этого вопроса—одна для *Moina macroscopa*, отвечающая на него положительно⁽¹⁰⁾, вторая для *Copepoda*, отрицающая пригодность бактерий для питания.

Объектом для нашей работы была выбрана *Daphnia*, хорошо размножающаяся в лабораторных аквариумах. Опыты велись, главным образом, с *Daphnia magna*, ряд опытов был поставлен и с *D. pulex* (были выведены чистые линии). Для решения стоявшей перед нами задачи необходим был бактериологически стерильный в живом состоянии материал. Таких абсолютно освобожденных от бактерий животных удалось получить, используя стерильность эмбрионов в выводковых камерах самок, путем длительного ряда промываний их в серии стерильных сосудов с водой, немедленного отсаживания вылупляющейся молодежи и промывания послед-

ней в такой же серии сосудов со стерильной водой. Я воспользовалась методом Гаевской (1), давшей метод массовой стерилизации дафний, метод, позволяющий получать относительно большие количества материала; я стала пользоваться этим методом, но с некоторыми изменениями, хотя и удлиняющими процесс промывания, но более гарантирующими успех.

Получавшиеся после промывания молодые стерильные дафнии (в возрасте 2—3 час.) рассаживались по одной в колбочки со стерильной невосковой водой, откуда через короткое время (1/2—1 час) делались высевы на МПБ для проверки стерильности. Лишь после этого в колбочки прибавлялась эмульсия того или другого вида бактерий. Через 48 час. из серии исключались колбочки, в которых находились оказавшиеся после промывания нестерильными животные (таких обычно было очень немного). В опытах дафнии регулярно пересаживались с соблюдением условий стерильности в такие же колбочки, куда была внесена свежая эмульсия того же самого вида микробов. Эти пересадки проводились в одних сериях каждые 24 часа, в других через 48 час. К первоначальному общим наблюдениям при опытах над внешним видом и поведением дафний затем были присоединены измерения и просмотр под микроскопом, для чего пришлось не менее 3 экземпляров помещать в одинаковые условия, чтобы иметь возможность один из них измерить и просмотреть через 5 суток, второй—через 10 и третий—через 15.

Для выращивания дафний было испробовано 37 штаммов микроорганизмов, среди которых были кокки, сарцины и палочки, спороносные и неспороносные, а также дрожжевые грибки: *Micrococcus candidans* Flügge, *Micr. corallinus* Cantani, *Micr. piltonensis* Gray & Thornton, *Micr. sulfureus* Zimmermann, *Sarcina flava* De-Bary, *S. rosea* (Schröter) Zimmermann, *S. lutea* Schröter, *S. aurantiaca* Flügge, *Bact. fluorescens liquef.* Flügge, *Bact. prodigiosum* (Schröter) Lehmann & Neumann, *Bact. violaceum* Schröter, *Bact. aurantiacum* Frankland, *Bact. denitrificans* Lehmann & Neumann, *Bact. stutzeri* Lehmann & Neumann, *Bact. coli*, *Bact. coli intermedium*, *Bact. coli aerogenes*, *Bact.* № 1—5 (выделенные из среды *Banta*), *Bac. mycoides* Flügge, *Bac. ellenbachensis* Gotteil, *Bac. megatherium* De-Bary, *Bac. mesentericum* Flügge, *Azotobacter chroococcum* Beijerinck, *Azotobacter agile* Beijerinck, *Az. vinelandii* Lipmann, *Torula alba*, *Torula rosea*, *Torula alba* № 5 и № 8, *Torula rosea* № 1 и № 3, *Saccharomyces cerevisiae*, *Sacc. ellipsoideus* Al.*.

Результаты проведенных опытов (около 300) показали, что дафнии могут питаться исключительно микроорганизмами, могут быть выращены на них до взрослого состояния и дать нормальное потомство, но что не все виды микроорганизмов могут быть использованы дафниями как пища, а так же, что питательная ценность различных видов неодинакова. Прекрасным питательным материалом для дафний являются клетки различных видов азотобактера (*Az. chroococcum*, *Az. agile* и *Az. vinelandii* и *Torula*), как бесцветных, так и пигментных. Рост дафний на эмульсиях как азотобактера, так и *Torula*, не отставал от контрольных, несмотря на то, что в опытах употреблялась вода из реки Невы, слабо минерализованная, контрольные же экземпляры держались на навозной среде *Banta* (9). Дафнии на эмульсиях азотобактера и *Torula* в нормальные сроки достигали взрослого состояния, откладывали яйца и давали потомство. Они имели прекрасную красновато-розовую окраску, у них накапливался запасный питательный материал. Переваривание клеток мик-

* Большая часть культур была получена из Музея живых культур Всес. ин-та микробиологии. *Torula alba* № 5 и № 8, *Torula rosea* № 1 и № 3 выделены из красного снега (Салимовская-Родина, Арх. биол. наук, XLIII, 1936).

робов и образование пищевого комка можно было легко видеть под микроскопом. Особенно отчетливо можно наблюдать это на эмульсиях *Torula rosea* благодаря ясно видимому под микроскопом изменению окраски дрожжевых клеток в процессе продвижения их по пищевому тракту дафний.

Значительно труднее оказалось вырастить дафнии до взрослого состояния на эмульсиях других микробов, перечисленных в списке (*Bact. violaceum* и *Bact. prodigiosum* должны быть выделены и рассмотрены отдельно). В большинстве опытов на эмульсиях микроорганизмов (кокков, сарцин или бактерий) наблюдалась одинаковая картина. Дафнии развивались нормально первые 5—10 дней, затем рост их или замедлялся или совершенно останавливался, и через разные сроки наступала их гибель. В единичных случаях на тех же эмульсиях дафнии развивались нормально. Возникло предположение, что в условиях опыта дафнии не могут из клеток одного какого-либо вида получить все необходимые им для нормального развития питательные вещества. Поэтому были испробованы различные бактериальные смеси, не давшие, однако, ничего существенно нового. Если и наблюдался несколько более быстрый рост по сравнению с выращиваемыми только на эмульсии одного вида дафниями, то все равно рост отставал от нормального, отложения яиц не наступало, и через различные сроки дафнии погибали.

Как пример могут быть приведены данные роста дафний на эмульсии *B. fluorescens* в чистом виде и с прибавлением к ней эмульсий других видов и бактерий (табл. 1).

Таблица 1

Размеры дафний (в мм) через 12 дней на эмульсиях бактерий*

	<i>B. fluorescens</i>	<i>B. fluorescens</i> + <i>Sarc. flava</i>	<i>B. fluorescens</i> + <i>B. ellenbachensis</i>	<i>B. fluorescens</i> + <i>B. denitrificans</i>	Контроль (среда Banta)
Длина тела	1,2	1,35	1,64	1,39	2,5
» шипа	0,38	0,41	0,44	0,38	0,5
Ширина тела	0,69	0,81	0,94	0,88	1,7
Количество суток, через которые дафнии погибли . . .	16	20	24	20	—

Употребление эмульсий бактерий, выделенных из навозного настоя, на котором дафнии прекрасно размножались и могли быть культивированы в продолжение неограниченного количества времени, не дало новых результатов. Наблюдения над дафниями показали, что гибель их в большинстве случаев наступала от отравления продуктами жизнедеятельности бактерий, накапливающихся в среде. Перенос погибающего экземпляра в свежую среду часто возвращал его к нормальному состоянию.

Дальнейшие опыты показали, что кроме вида бактерий, употребленных в качестве питательного материала, имеет большое значение и количество их. Особенно непригодными оказались большие концентрации.

* Размеры (в мм) молодых дафний в возрасте 3-х час.: длина тела 0,88, длина шипа 0,38, ширина тела 0,57 (средние данные).

Размеры дафний (в мм) на различных концентрациях микробов* Таблица 2

Размеры	<i>Azotobacter chroococcum</i>						<i>B. coli intermediatum</i>					
	80 000	65 000	32 500	16 250	12 100	8 100	4 000	9 500 000	4 750 000	2 375 000	475 000	47 500
Через 5 суток	Длина тела » шипа	1,2 0,35	1,32 0,3	1,22 0,35	1,35 0,38	1,45 0,47	1,2 0,38	1,26 0,41	1,26 0,35	1,29 0,41	1,48 0,41	1,26 0,35
Через 40 суток	Длина тела » шипа Ширина тела	0,9 1,38 0,38	0,81 1,38 0,4	0,75 4,5 0,3	0,81 4,57 0,38	0,88 2,52 0,53	0,69 2,47 1,5	0,75 1,45 0,3	0,75 Погибли на 10-й день	0,81 Погибли на 10-й день	0,88 2,02 0,57	0,7 1,38 0,4
Через 45 суток	Длина тела » шипа	— —	— —	4,57 0,3	2,05 0,3	2,9 0,5	2,43 0,47	— —	— —	2,1 0,45	2,39 0,44	1,29 0,5
	Ширина тела	—	—	0,94	4,26	1,89	1,67	—	—	1,28	1,6	1,2
		Погибли на 12-ые сутки	Погибли на 14-ые сутки	Молодь на 12-ые сутки	Молодь на 14-ые сутки	Молодь на 14-ые сутки	Молодь на 14-ые сутки	Погибли	Погибли	Молодь на 14-ые сутки	Молодь на 14-ые сутки	Молодь на 14-ые сутки

* Размеры новорожденных дафний указаны в табл. 1. Счет бактерий в эмульсиях производился прямым методом (по Исаченко).

Возможно, что при высоком содержании бактерий быстрее наступает отравление дафний продуктами жизнедеятельности бактерий. Следует отметить, что кишечный тракт дафний при рассматривании под микроскопом при высоком содержании микробов в воде колб представляется пустым. С другой стороны, при малом содержании бактерий животные голодают. Нормальное развитие могло быть получено лишь на определенных концентрациях бактерий, при которых наблюдалось и нормальное состояние кишечника. Количество клеток в воде имеет значение и для таких высокопитательных для дафний микробов, как азотобактер. Для иллюстрации значения содержания бактерий в воде привожу данные двух серий: Ic *Az. vinelandii*, IIc *B. coli intermediatum* (табл. 2).

По выяснении того значения, какое имеет содержание микробов в среде, сделалось понятным нормальное развитие дафний в отдельных опытах. Концентрация бактерий в них случайно оказалась благоприятной. Серии опытов с концентрациями были поставлены с *Sarcina flava* и 5 штаммами бактерий, выделенными из навозного настоя. Они показали полную пригодность указанных штаммов для питания дафний. Несомненно, что список этот может быть расширен.

Еще одно обстоятельство имеет значение при выращивании дафний на микроорганизмах, имеющих меньшую питательную ценность, чем, например, азотобактер или *Torula*, — это употребление в опытах вместо слабоминерализованной невской воды навозной среды *Banta*, предварительно профильтрованной через свечу Chamberland'a (марка F).

Ряд микроорганизмов является совершенно непригодным

для питания дафний. К таким относятся из испробованных нами две формы *B. prodigiosum* и *B. violaceum*. На непригодность для питания *B. violaceum* указывают Stuart, Mac-Pherson и Н. J. Cooper⁽¹⁰⁾. Помещенные в колбочки с эмульсиями *B. prodigiosum* молодые дафнии погибали уже через сутки, на пигментных штаммах *B. violaceum*—через 4—5 дней. Неокрашенные штаммы *B. violaceum* не оказывали такого губительного действия, что указывает на влияние пигмента. Прибавление незначительных количеств *B. violaceum* или *B. prodigiosum* к эмульсии *Torula* или азотобактера, на которых дафнии, как указывалось, вообще прекрасно росли, вызывало их гибель.

Поступило
19 VI 1940

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. С. Гаевская, Зоолог. журн., XVII, вып. 6 (1938). ² С. А. Зернов, Общая гидробиология (1934). ³ А. С. Разумов, Микробиология, I, вып. 2 (1932). ⁴ В. М. Рылов, Тр. Лен. об-ва естествоисп., т. IX, вып. 2 (1930). ⁵ А. Г. Салимовская-Родина, Микробиология, VII, вып. 6 (1938). ⁶ Е. М. Хартулари и С. И. Кузнецов, Тр. Лимнол. ст. в Косине, вып. 21 (1937). ⁷ R. Veré, Intern. rev. d. hydrobiol., 29 (1933). ⁸ J. Fuller a. G. Clarke, Biol. Bull., LXX, № 2 (1936). ⁹ P. S. Galtsoff, Fr. Lutz, P. S. Welch, J. Needham, Culture Methods for Invertebrate Animals (1937). ¹⁰ C. A. Stuart, M. McPherson a. H. J. Cooper, Physiol. Zoölogy, IV, № 1 (1931).