

МИКРОБИОЛОГИЯ

А. Е. КРИСС, Е. А. РУКИНА и А. С. ТИХОНЕНКО

**БИОМАССА МИКРООРГАНИЗМОВ НА ДНЕ В СЕРОВОДОРОДНОЙ  
ОБЛАСТИ ЧЕРНОГО МОРЯ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 5 IX 1950)

Животное и растительное население занимает лишь небольшую часть площади дна Черного моря. Судя по данным В. Никитина (12), лишь 23% поверхности дна заселено бентосными формами. Остальное пространство дна, примерно 320 000 км<sup>2</sup>, подстилая воды Черного моря, зараженные сероводородом, представляет собой пустыню. В ней находят условия для своего существования только микроорганизмы, деятельность которых имеет определяющее значение для гидрохимического режима всего Черного моря, особенно в отношении биогенных элементов, а следовательно, для развития жизни в кислородной зоне.

Наши исследования (8-10) показали, что на дне сероводородной области Черного моря, на глубинах более 2000 м, активно протекают микробиологические процессы превращения органического вещества и неорганических соединений. В поверхностных слоях глубоководных илов встречаются в больших количествах представители самых различных физиологических групп микроорганизмов, участвующих в круговороте углерода, азота и серы: микробные формы, обладающие резко выраженной протеолитической активностью, кислотообразующие, денитрофицирующие, нитрофицирующие, тионовокислые и десульфурирующие микроорганизмы.

Однако далеко не все виды микроорганизмов способны к развитию в искусственных условиях, создаваемых в лабораторной обстановке. Поэтому для того, чтобы составить суждение об общем числе микроорганизмов, а следовательно, о биомассе микробного бентоса в зоне пустыни на дне сероводородной области Черного моря, мы применили метод прямого счета Виноградского, основанный на принципе непосредственной микроскопии исследуемого материала. С этой целью во время экспедиции 1949 г. на 3 станциях в средней части восточной половины Черного моря, расположенных: 1-я от второй на расстоянии 40 миль и 3-я от второй на расстоянии 75 миль, были взяты с помощью трубы Экмана колонки илов. Глубины составляли на 1-й станции 2130 м, на 2-й 2170 м и на 3-й 2217 м. Препараты из ила на всех трех станциях готовились на судне в микробиологической лаборатории, вскоре после получения колонок. Исследовалось пять слоев ила в каждой колонке на протяжении 6,5—11 см от поверхности дна моря. Однако следует учесть, что строгого разграничения этих слоев, благодаря несовершенству трубы Экмана, достичь не удалось. При погружении трубы в грунт, а также при выталкивании специальным шомполом (наша трубка не имела вкладыша) неизбежно происходит перемешивание слоев, особенно в частях колонки ила, примыкающих

Таблица 1

Количественное распределение микроорганизмов в илах сероводородной области Черного моря

Число колоний, выросших на рыбо-пептонном агаре (в тыс. на 1 г ила)  
по методу прямого счета (в миллионах на 1 г ила)

Слон ила	1-я станция					2-я станция					3-я станция					1-я станция					2-я станция					3-я станция				
	актином.	бактер.	грибы	хемопа.	хемопа.	актином.	бактер.	грибы	хемопа.	хемопа.	актином.	бактер.	грибы	хемопа.	хемопа.	актином.	бактер.	грибы	хемопа.	хемопа.	актином.	бактер.	грибы	хемопа.	хемопа.	актином.	бактер.	грибы		
I	8,7	2	0,1	10,8	10	10	10	10	50	687	2156	95	24	2962	265	2023	119	92	2499	139	1193	44	146	1522	27	1370	888			
II	1	11	1	13	0,1	0,1	0,7	0,6	1,4	1	1	6	534	2319	452	10	3315	190	1428	75	109	1802	112	959	272	27	1370	888		
III	0,2	0,1	0,1	0,3	0,4	1,1	1,5	0,8	0,4	0,1	1,3	1,26	1438	68	10	1642	126	1574	75	48	1823	456	432	371	207	578	1153	524		
IV	0,1	0,1	0,1	0,3	0,5	0,1	2,6	2,6	0,1	2,9	1,1	0,1	0,3	1,5	299	1816	700	3	2818	95	1969	24	202108	371	207	578	1153	524		
V	0,1	0,1	0,1	0,8	0,4	0,1	0,1	0,1	0,5	0,1	1,2	0,5	0,1	1,8	337	1040	1139	1	2516	54	1839	745	172655	629	524	1153	524	524		

к стенке трубы Экмана, достаточное для того, чтобы в ряде случаев сказаться на результатах микробиологических исследований данной пробы ила, взятой в удалении от стенки трубы. Толщина исследованных слоев на 1-й станции была: I слой (поверхностный) — 1,5 см, II — 2 см, III — 2,5 см, IV — 3 см, V — 2 см; на 2-й станции: I слой — 1 см, II — 2 см, III — 2 см, IV — 2 см, V — 1 см; на 3-й станции: I слой — 1 см, II — 1 см, III — 1,5 см, IV — 1,5 см, V — 1,5 см. Для приготовления препаратов применялась несколько видоизмененная методика Виноградского\*. Каждая проба ила в количестве 1 г суспензировалась в 100 мл 0,0004 N раствора NaOH, взвалывалась 30 мин. 1/25 мл этой суспензии наносилась в смеси с 0,1% агар-агара, приготовленного на 1% карболовом растворе (этот раствор агара предварительно фильтровался через мембранный фильтр), равномерным слоем на площадь в 6 см<sup>2</sup> на предметном стекле. Препараты затем окрашивались 1% эритрозином в 5% карболовом растворе. Подсчет производился в 100 полях зрения. Просматривалось 14 400 мелких квадратиков окулярной сетки при увеличении 1350×.

Для сравнения одновременно был произведен посев тех же проб ила на рыбо-пептонный агар, приготовленный на морской воде и разлитый в чашки Петри. Засевалось по 0,1 мл разведений ила 1:10, 1:100 и 1:1000. Через 3—5 дней температурной инкубации при 22—30° сосчитывалось общее число колоний. Вслед за общим подсчетом производилась микроскопия препаратов из каждой колонии, при этом учитывалась численность представителей различных систематических групп микроорганизмов.

Из табл. 1 видно, что наибольшее число микроорганизмов, спо-

\* Препараты ила для прямого счета микроорганизмов были приготовлены Л. А. Варфоломеевой.

собных развиваться на мясо-пептонном агаре, сосредоточено в самом-поверхностном слое ила. С глубиной погружения в ил, даже небольшой, количество их заметно уменьшается, что не составляет особенности Черного моря, а свойственно, судя по данным ряда исследователей, и другим морям. Оценивая максимальные значения цифр, выражающих численность этих гетеротрофных форм микроорганизмов на 3 станциях, следует отметить, что в 1946 г. <sup>(8)</sup> и в 1948 г. в том же районе моря было определено в ряде проб не десятки тысяч, а сотни тысяч микробных форм, образующих колонии на рыбопептонном агаре, в расчете на 1 г ила. Эти различия могли зависеть от количественного содержания в данной пробе разлагающихся органических остатков или глубины взятия образца ила из поверхностного слоя (максимальные количества микроорганизмов встречаются в самом поверхностном горизонте в полужидкой массе грунта).

Однако и сотни тысяч колоний, вырастающих на агаре из 1 г ила, не характеризуют численность гетеротрофов в илах Черного моря. На жидких средах, особенно на таких, как рыбо-пептонный бульон или среда Гильтая для денитрификаторов, в тех же пробах титр гетеротрофных микроорганизмов составлял миллионы и десятка миллионов.

Во много раз выше в исследованных илах общее число микробных тел. В 1 г ила они насчитывались сотнями миллионов, а в поверхностных слоях содержание клеток микроорганизмов было в пределах 1,5—3 млрд. По своим значениям цифры находятся в ряду максимальных, определенных для других морей или озер <sup>(3), (6-7), (11), (13)</sup>, превышая также данные, полученные Б. Исаченко <sup>(5)</sup> при исследовании одной пробы черноморского ила с глубины 2188 м, — 274 млн. в 1 г ила (к сожалению, неизвестно, с какой глубины от поверхности дна был взят этот образец).

Нужно обратить внимание на выраженные в большей или меньшей степени колебания в численности микробных клеток в различных слоях грунта на протяжении 6,5—11 см от верха колонки. Такие колебания отмечают и некоторые авторы, исследовавшие колонки илов других морей. Несомненно, что это явление обусловлено не только причинами методического характера, но и в определенной мере характеризует неравномерность распределения микроорганизмов в донных отложениях.

Что касается систематического состава микроорганизмов в илах сероводородной области Черного моря, то, если судить по выросшим колониям, в грунте преобладают палочковидные формы, среди которых нередко значительное место занимают споровые бактерии. Примерно такая картина наблюдается и при непосредственной микроскопии препаратов ила. Однако заметное несоответствие, обнаруженное и при исследовании воды с ряда горизонтов Черного моря, выступает при сравнении данных о соотношении кокковых форм и других микроорганизмов, полученных с помощью метода счета колоний и метода прямого счета. Почти во всех пробах под микроскопом отчетливо видно явное преобладание кокковых форм среди других микробных клеток — обстоятельство, указывающее в какой-то мере на морфологию тех микробных видов, которые не поддаются культивированию в лабораторной обстановке.

Характеризуя бактериоскопически состав микробного населения глубоководных илов Черного моря, следует отметить, что палочковидные формы встречаются различной длины и ширины. Наряду с прямыми наблюдаются слегка искривленные или изогнутые клетки. Протоплазма их нередко содержит крупные или мелкие зернистые включения. Кокки обычно располагаются одиночно и редко парно-или мелкими скоплениями. Величина их колеблется, так же, как и

интенсивность окрашиваемости эритрозином их протоплазмы. Некоторые кокки окружены в виде ореола субстанцией, слабо окрашивающейся эритрозином. Заметно варьируют в своей величине и споры — чаще видны овальные споры, но среди них можно обнаружить и шаровидные. В препаратах можно встретить нитевидные формы микроорганизмов, прямые (рис. 1), изогнутые или образующие петли (рис. 2), различные по длине, ширине и интенсивности окраски эритрозином. Часть из них имеет гомогенное содержимое, другие — различные включения (рис. 1). Попадаются нити с утолщением в середине, напоминающее спору (рис. 3). Изредка в илах обнаруживаются крупные клетки, похожие на дрожжевые или на конидии грибов, слабо окрашивающиеся эритрозином.

Разнообразные по своим морфологическим признакам и физиологическим свойствам микроорганизмы илов сероводородной области Черного моря играют большую роль в превращениях веществ на дне моря. Если принять объем микробных тел в среднем равным  $1\text{ }\mu^3$ , а удельный вес микроорганизмов за единицу, то биомасса микробных клеток на  $1\text{ m}^2$  поверхности дна Черного моря составит 15—30 г, т. е. будет превышать величину биомассы микрофитобентоса и равняться величине биомассы микрозообентоса в продуктивной<sup>(1)</sup> северо-западной части Черного моря. Значение этих цифр становится очевидным, если учесть, что микробный бентос, в отличие от других форм бентоса, заселяет не 23%, а всю площадь дна Черного моря. Считая условно 1000 генераций в год, годовая продукция микробного бентоса превысит в несколько десятков раз годовую продукцию зообентоса в Черном море, приводимую Л. Зенкевичем<sup>(4)</sup>.

Высокие числа микроорганизмов в глубоководных илах свидетельствуют о том, что и в грунтах сероводородной области Черного моря энергично протекают процессы метаморфоза органических и неорганических соединений. Эта интенсивность микробиологических процессов на дне Черного моря, несмотря на высокую концентрацию сероводорода, приводит к тому, что доступные микроорганизмам формы органического вещества претерпевают изменения и в виде продуктов минерализации вступают вновь в цикл круговорота, о чем, в частности, говорят не отличающиеся от других морей данные о количественном содержании органического вещества<sup>(2)</sup> в глубоководных илах Черного моря.

Институт микробиологии и  
Севастопольская биологическая станция  
Академии наук СССР

Поступило  
27 VII 1950

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Л. Арнольди, Рефераты работ учрежд. Отдел. биол. наук АН СССР, (1940)  
<sup>2</sup> А. Архангельский и Н. Страхов, Геологическое строение и история развития Черного моря, Изд. АН СССР, 1938. <sup>3</sup> В. Буткевич, Тр. Гос. океаногр. ин-та, 2, в. 2, 5 (1932). <sup>4</sup> Л. Зенкевич, Фауна и биологическая продуктивность моря, 1947.  
<sup>5</sup> Б. Исаченко, Зап. Гос. гидролог. ин-та, **10**, 377 (1933). <sup>6</sup> Б. Исаченко, Тр. Аркт. ин-та, **82**, 7 (1937). <sup>7</sup> Е. Колесник, цит. по Б. Исаченко, Микробиология, **6**, в. 8, 964 (1937). <sup>8</sup> А. Крисс и Е. Рукина, там же, **18**, в. 2, 141 (1949).  
<sup>9</sup> А. Крисс и Е. Рукина, там же, **18**, в. 4, 332 (1949). <sup>10</sup> А. Крисс и Е. Рукина, там же, **18**, в. 5, 402 (1949). <sup>11</sup> С. Кузнецов, Тр. Всес. гидробиолг. об-ва, **1**, 73 (1949). <sup>12</sup> В. Никитин, ДАН, **21**, № 7 (1938). <sup>13</sup> S. Waksman. Ecolog. Monogr., **4** (1934).

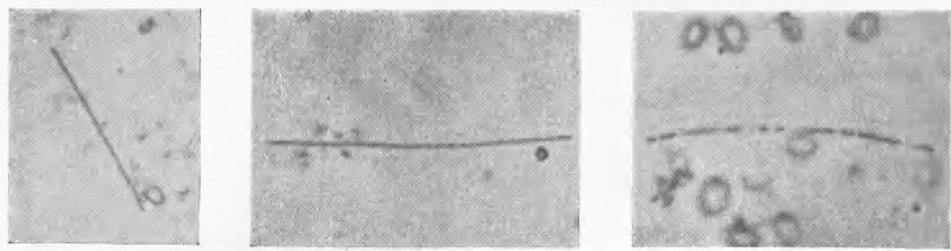


Рис. 1. Прямые нитевидные формы

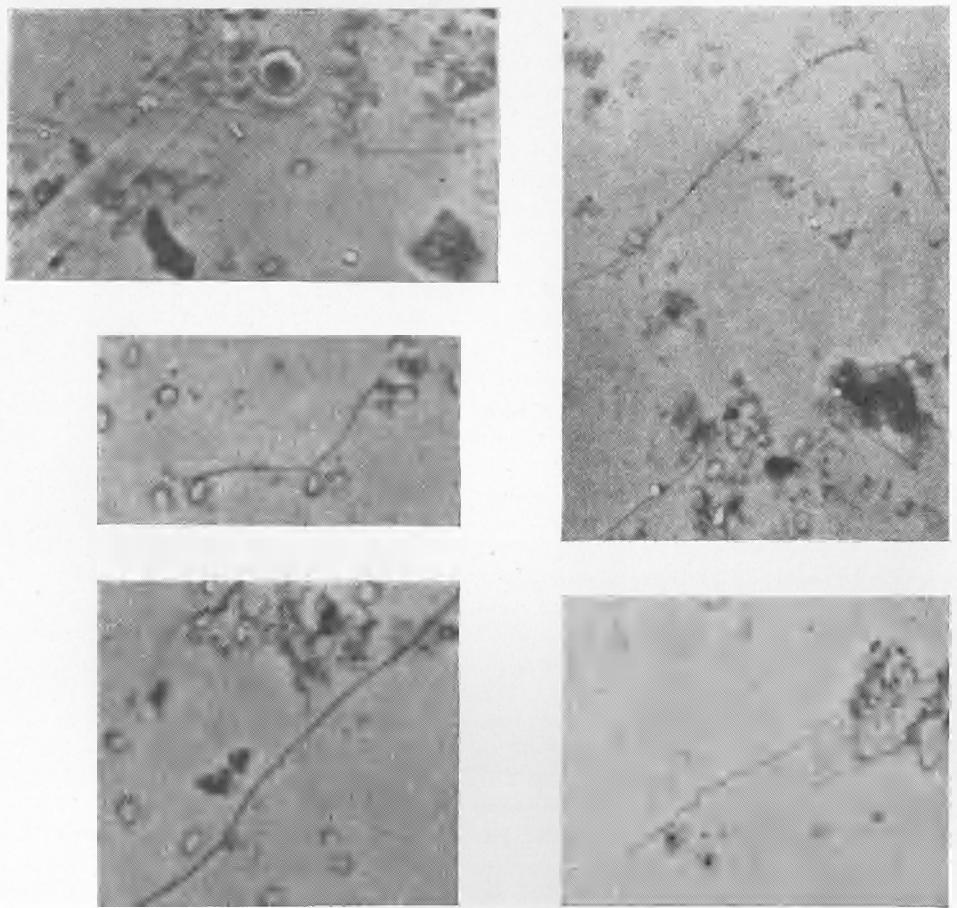


Рис. 2. Изогнутые нитевидные формы

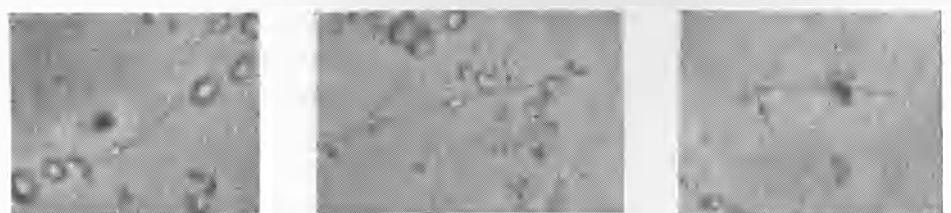


Рис. 3. Нити с утолщением в середине, напоминающим спору