

МИКРОБИОЛОГИЯ

Ф. И. КОПП и Е. М. МАРКИАНОВИЧ

О РАЗРУШАЮЩИХ ХИТИН БАКТЕРИЯХ В ЧЕРНОМ МОРЕ

(Представлено академиком А. И. Опарным 26 X 1950)

Хитин составляет значительную часть наружных покровов многих обитателей моря. Так, в панцире ракообразных он занимает третье место после минеральных солей и белка. Количество хитина, по данным Кюкенталя<sup>(10)</sup>, колеблется у различных морских организмов от 5 до 8% общего веса, но неясно, относятся ли эти данные к живому весу или сухому веществу. Джонстон подсчитал, что ракообразные ежегодно в море образуют несколько миллионов тонн хитина (цитировано по<sup>(12)</sup>). Принимая во внимание, что хитин относится к числу нерастворимых веществ (хитин — полимер глюкозамина, в котором аминогруппа окислена ( $C_{32}H_{54}O_{21}N_4$ )), следовало бы ожидать громадных скоплений его на дне моря, но в действительности количество хитина в морских осадках относительно невелико. Наличие в морской воде бактерий, разрушающих хитин, является одним из моментов, играющих первостепенную роль в поддержании органической продуктивности моря. Если бы хитин не разрушался, то это повлекло бы весьма существенные отклонения в цикле углерода и азота.

Вопросы судьбы хитина в море только в последние 10—15 лет нашли должное освещение в литературе<sup>(2, 3, 11, 12)</sup>.

Первые хитинообразующие бактерии были выделены из сточных вод Кильской гавани Бенеке<sup>(7)</sup>, но у автора были сомнения, что выделенная им бактерия *Vac. chitinovorus* является морской формой.

Многочисленными работами различных авторов<sup>(11, 12)</sup> и др.) было установлено широкое распространение бактерий, разрушающих хитин в морских осадках. Так, по данным Цобелла<sup>(12)</sup>, от 0,1 до 1% морских бактерий, живущих в илу, способны разлагать хитин. Работами Хока<sup>(8, 9)</sup> доказано, что хитинразрушающие бактерии также широко распространены и в морской воде. Последним было выделено из морской воды два новых вида хитинразрушающих бактерий: *Bact. chitinophilum* и *Bact. chitinichroma*.

Кроме того, бактерии, разрушающие хитин, были обнаружены и на поверхности ряда хитинсодержащих организмов, а также у некоторых в содержимом желудочно-кишечного тракта<sup>(8)</sup>.

Как указывает Цобелл<sup>(12)</sup>, ряд авторов склонен предполагать, что бактерии, разрушающие хитин, могут быть причиной массового заболевания некоторых организмов (омаров и др.), вызывая размягчение панциря. Им описана вспышка такого заболевания на промысле западного побережья Америки.

Микробиологическая лаборатория Севастопольской биологической станции поставила себе задачей выделение разрушающих хитин бактерий в Черном море. Во время экспедиции 1948 г. в восточной части

Черного моря на глубоководных станциях по разрезу Ялта — Батуми были взяты для бактериологических исследований пробы воды. Всего во время экспедиции было взято 48 проб из различных глубин моря.

Наряду с посевами этих проб на многие среды для обнаружения различных групп микроорганизмов, на трех станциях, расположенных на расстоянии 80—110 миль от берега, был произведен посев и на следующую среду для выделения бактерий, разрушающих хитин\*: в пробирку с 10 мл морской воды помещались треугольные кусочки обваренного в кипятке панцыря краба и стерилизовались при 1 атм. в течение 15 мин. Посев на эту среду производился в количестве 2 мл соответствующей пробы воды непосредственно из батометра. Посевы выдерживались при температуре 16—18°. Кроме данной среды, в дальнейшем, при лабораторных пересевах, во избежание влияния других химических соединений, входящих в состав панцыря, применялась также среда с химически чистым хитином.

Через 2—3 недели после посева во многих пробирках было обнаружено сильное окрашивание среды, при совершенно неизменном контроле, — в розовый, желтый и оливковый цвета. Окраска среды сохранялась почти до полного разрушения хитина.

Изменение окраски среды могло произойти либо за счет размножения пигментированных хитинразрушающих бактерий, на наличие которых есть указание в работах (8, 12), либо за счет изменения реакции среды в результате жизнедеятельности бактерий и перехода естественного пигмента краба в другую форму. В пользу последнего предположения говорит следующее.

В дальнейшем при пересевах из этих накопительных культур на среду с химически чистым хитином (в 100 мл морской воды растворялось 0,02 г фосфорнокислого натра, среда разливалась по пробиркам по 10 мл, в них помещались кусочки химически чистого хитина, и затем пробирки с этой средой стерилизовались при 1 атм. в течение 15 мин.) никакого окрашивания не появлялось, пробы оставались совершенно бесцветными до полного разрушения хитина.

Следует отметить, что разрушение хитина, как в первых посевах на среде с панцырем краба, так и в пересевах на среде с химически чистым хитином, долго не наступало. Первые признаки разрушения появились лишь спустя 3 месяца. Полное разложение хитина заканчивалось примерно через 6 месяцев (табл. 1), причем как на среде с крабом, так и на среде с химически чистым хитином разложение хитина начиналось с появления сильной мути, хитин становился мягким и затем постепенно полностью разрушался, превращаясь в кашеобразную, а в некоторых случаях в тягучую массу.

Повидимому, разрушение хитина происходит до стадии минерализации. Так, по мере роста бактерий, разрушающих хитин, отмечалось постепенное образование аммиака. Аммиак определялся через каждые 10—15 дней в среде по оранжево-желтому окрашиванию с реактивом Несслера. Накопление аммиака на среде с крабом и особенно на среде с химически чистым хитином, где исключена возможность образования аммиака за счет белка панцыря, может служить подтверждением, что разрушение хитина идет до образования минеральных продуктов.

Наличие бактерий, разрушающих хитин, было обнаружено не во всех взятых пробах. Разрушение хитина отмечено только в 16 пробах из 48 (табл. 1), причем преимущественно с глубинных горизонтов. До глубины 100 м в наших исследованиях не были выявлены микробные формы, разрушающие хитин.

Возможно, это явление связано с тем, что у хитинсодержащих свободно плавающих организмов после отмирания и частичного разруше-

\* Посевы на судне во время экспедиции были произведены Е. А. Рукиной.

Таблица 1

Распространение в глубинах моря микроорганизмов, разрушающих хитин, и их активность. (Цифры в первых двух графах указывают день, на какой наблюдалось полное разрушение панцыря краба или чистого хитина; в графе  $\text{NH}_3$ —день, когда была отмечена ясная реакция на аммиак в одном из пересевов на среду с чистым хитином. — отсутствие в пробе воды с данного горизонта микроорганизмов, разрушающих хитин)

Глубина в метрах	Станция VI			Станция VII			Станция VIII		
	Среда с крабом	Чистый хитин	$\text{NH}_3$	Среда с крабом	Чистый хитин	$\text{NH}_3$	Среда с крабом	Чистый хитин	$\text{NH}_3$
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	—	—	—	—	—	—	—	—	—
50	—	—	—	—	—	—	—	—	—
75	—	—	—	—	—	—	—	—	—
100	—	—	—	—	—	—	107 Желт. окр.	178 Муть, но разруш. нет	89
125	107 Розов., затем жел. окр.	83 Начало разруш.	89	—	—	—	107 Розов., затем желт. окр.	83	89
150	—	—	—	—	—	—	—	—	—
175	107 Желто- розов., затем желт. окр.	178 Муть, но разруш. нет	89	107 Розов., затем желт. окр.	178 Муть, но разруш. нет	73 дн.	—	—	—
200	—	—	—	—	—	—	107 Среда оливков. цвета	83	29
225	—	—	—	—	—	—	—	—	—
250	107 Желт. окр.	83	89	—	—	—	107 Слаб. разруш.	83	89
275	—	—	—	—	—	—	—	—	—
300	—	—	—	—	—	—	—	—	—
500	107 Желт. окр.	178 Муть, но разруш. нет	89	—	—	—	—	—	—
750	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1000	107 Розов., затем желт. окр.	83	89	—	—	—	На 107-й день муть, но разруш. нет	83	89
1250	107	83	29	—	—	—	На 107-й день муть, но разруш. нет	83	—
1500	107 Желто-ро- зов., затем желт. окр.	83	29	—	—	—	—	—	—
1750	—	—	—	—	—	—	107 желт. окр.	178 Нач. разруш.	89
2000	—	—	—	—	—	—	107	178	73

ния хитин их, как более устойчивое вещество, сосредоточивается в глубинных слоях, где и является субстратом для соответствующих групп бактерий.

Необходимо отметить, что разрушение хитина в лабораторных условиях, как у нас, так и у других авторов, происходило в аэробных усло-

виях. Но, как следует из полученных нами данных, разрушение хитина в Черном море происходит, главным образом, в анаэробных условиях. Об этом говорит то обстоятельство, что именно из глубоководных слоев моря, зараженных сероводородом, более всего выделено хитинразрушающих бактерий.

На возможность разложения хитина в анаэробных условиях есть указание и у Цобелла (12). Он считает, что в море имеются как аэробные, так и анаэробные хитинразрушающие бактерии, но в то же время он подчеркивает, что разрушение хитина идет «охотнее» в аэробных условиях. Тот факт, что выделенные нами хитинразрушающие бактерии из глубин, зараженных сероводородом, т. е. из анаэробных условий, хорошо культивировались в аэробных условиях, позволяет допустить, что данные бактерии являются факультативными анаэробами.

Повидимому, хитинразрушающие бактерии, оседая на органических частичках, приспосабливаются на больших глубинах к новым условиям, в данном случае, к наличию сероводорода. Возможно в симбиозе с другими бактериями они находят в глубинах Черного моря благоприятные условия для своей жизнедеятельности.

На разложение хитина в присутствии сульфатвосстанавливающих бактерий, есть указание у В. Алешиной (1). Ею отмечено разрушение хитина в строго анаэробных условиях в культурах бактерий, восстанавливающих сульфаты. Это разрушение хитина она рассматривает как результат деятельности сульфатвосстанавливающих бактерий. Но возможно, что в данном случае, помимо сульфатвосстанавливающих бактерий, в культуре были и хитинразрушающие бактерии, так как чистых культур сульфатвосстанавливающих бактерий, как указывает сам автор, им не было получено.

Наличие в глубинах моря хитинразрушающих бактерий, обуславливающих разрушение такого стойкого органического вещества, как хитин, до более простых соединений, позволяет части азота и углерода вступать в новый цикл обмена веществ. Для Черного моря, в частности, этот процесс особенно важен, так как подтверждает (4-6), что в сероводородной зоне продолжают процессы трансформации органических соединений, попадающих на глубины из «живого» слоя моря.

Дальнейшей задачей явится изучение видового состава хитинразрушающих микроорганизмов и количественного распространения их в глубинах Черного моря, а также активность микробиологических процессов разрушения хитина в анаэробных условиях.

Севастопольская биологическая станция  
Академии наук СССР

Поступило  
29 IX 1950

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- 1 В. Алешина, Микробиология, 8, в. 7 (1938). 2 А. Имшенецкий, Природа, № 3—4 (1938). 3 В. Исаченко, Природа, № 2 (1939). 4 А. Крисс и Е. Рукина, Микробиология, 18, в. 2, 141 (1949). 5 А. Крисс и Е. Рукина, там же, 18, в. 4, 332 (1949). 6 А. Крисс и Е. Рукина, там же, 18, в. 5, 402 (1949). 7 W. Benecke, Bot. Ztg., I Abt., 63, 227 (1905). 8 С. Нок, Biol. Bull., 79, 199 (1940). 9 С. Нок, Journ. Mar. Res., 4, 99 (1941). 10 W. Kükenthal, Handb. d. Zool., 3, H. 1, Berlin u. Leipzig, 1926—1927, S. 846. 11 S. Waksman, Soil Sci., 36, 125 (1933). 12 C. I. Zobell, Marine Microbiology, 1946.