

<https://doi.org/10.3176/biol.1984.2.07>

УДК 577.486:628 394

Галина ФИШТЕЙН

СТРУКТУРА СООБЩЕСТВА МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ОРГАНИЗМОВ В ЗАМКНУТЫХ МИКРОЭКОСИСТЕМАХ

В настоящее время показана возможность изучения природных экосистем с помощью лабораторных микроэкосистем (МЭС) (Ferens, Beyers, 1972 и др.). В лабораториях имеется много самоподдерживающихся МЭС разной степени сложности (Beyers, 1964). Однако все они связаны с окружающей средой посредством газообмена, что снижает гомеостазис МЭС, с одной стороны, и с другой, затрудняет экспериментирование с ними. Нами была показана возможность существования МЭС, имеющих в значительной степени замкнутый круговорот веществ, изолированных от атмосферного воздуха. Такие МЭС для поддержания жизнедеятельности нуждаются только в поступлении световой энергии извне (Ковров и др., 1976) и представляют большой интерес для экологов.

Данная статья посвящена анализу структуры самоподдерживающихся МЭС, полученных путем составления из чистых культур автотрофных и гетеротрофных микроорганизмов.

Объект и методы исследования

Для составления МЭС использовали водоросли родов *Chlorella* и *Scenedesmus*, а также гетеротрофные микроорганизмы 14 видов (табл. 1). Набор микроорганизмов, составленный из водорослей одного вида и бакте-

Таблица 1

Список микроорганизмов, использованных для составления МЭС

Наименование и штамм	Место получения
<i>Mycobacterium rubrum</i> ВКМВ-874	Институт микробиологии АН СССР
<i>M. citreum</i> ВКМВ-649	"
<i>Sarcina flava</i> ВКМВ-490	"
<i>S. aurantiaca</i> ВКМВ-25	"
<i>Myrothecium</i> sp.	Институт почвоведения и агрохимии
<i>Alternaria</i> sp.	СО АН СССР
<i>Sporocytophaga myxococcoides</i>	"
<i>Micrococcus roseus</i>	Московский государственный университет
<i>M. rubens</i>	"
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Институт физики СО АН СССР
<i>P. dacunhae</i>	"
<i>P. denitrificans</i>	"
<i>P. capsulata</i>	"
<i>Pseudomonas</i> sp.	"
<i>Chlorella</i> 219	"
<i>Chlorella</i> 124	"
<i>Chlorella</i> 62	"
<i>Scenedesmus obliquus</i> 138	"

рий 2—5 видов, поместили в стеклянные пробирки объемом 50 мл с 10 мл среды Тамийя. Состав среды несколько отличался от оригинальной прописи тем, что вместо азотнокислого калия использовали мочевины. Пробирки герметично запаивали и установили в люминостате с круглосуточным освещением интенсивностью 2000 лк. Температуру поддерживали в пределах 28—30 °С. Было составлено 36 вариантов МЭС, отличающихся набором организмов.

В течение 34 месяцев в МЭС периодически определяли содержание хлорофилла и нерастворенного органического вещества (НОВ). Определение проводили спектрофотометрически в пробирках, снабженных кюветами. Расстояние между рабочими стенками кюветы 20 мм. НОВ регистрировали на длине волны 745, а хлорофилл — 680 нм с помощью спектрофотометра СФ-14.

Через 34 месяца все варианты МЭС достигли стационарного состояния по измеряемым параметрам. В стационарных МЭС исследовали структуру сообщества. Пробирки вскрывали, и в тот же час исследовали образец суспензии с помощью светового микроскопа. Отмечено наличие подвижных форм, морфологию клеток бактерий и водорослей. При малой численности организмов 2—3 мл суспензии сгущали центрифугированием, затем исследовали под микроскопом осадок.

Численность бактерий определяли по количеству колоний, выросших на пептонном и водорослевом агаре, на селективных средах для псевдомонад, для микобактерий и на некоторых других средах. Эти же среды использовали для выделения чистых культур. Идентификацию проводили по общепринятым морфологическим, культуральным и биохимическим признакам с помощью определителей Красильникова (1949) и Берги (1978).

Гифы и споры грибов и водоросли считали под микроскопом в камере Горяева. Среди клеток водорослей отличали клетки с зеленым хроматофором и обесцвеченные. Количество жизнеспособных клеток водорослей определяли по числу колоний, выросших на твердой минеральной среде. Доли автотрофного и гетеротрофного звеньев ценозов высчитывали по соотношению их биомасс. Биомассу организмов определяли путем перемножения среднего объема клетки на их число в суспензии. Объем клеток водорослей и кокков вычисляли как объем сферы, объем палочкообразных клеток — как объем цилиндра. Удельный вес приняли равным единице.

Биомассу популяции водорослей в МЭС в стационарном состоянии определяли с помощью стандартных кривых зависимости рассеивания света биомассой (мг/мл, на волне длиной 745 нм) от количества клеток в 1 мл суспензии.

Активную кислотность и окислительно-восстановительный потенциал определяли рН-метром (рН 340), а углекислый газ в атмосфере МЭС — с помощью инфракрасного спектрофотометра UR-20 в диапазоне 3600—3800 см⁻¹. Общую кислотность среды определяли титрованием 1 мл суспензии 0,01 н. щелочью. Содержание кислот пересчитывали на эквивалентный вес щавелевой кислоты.

Экспериментальная часть работы проведена в Институте физики СО АН СССР.

Результаты и их обсуждение

При исследовании смесей автотрофных и гетеротрофных организмов, находившихся в запаиваемых пробирках в течение 34 месяцев обнаружили, что только в 16 вариантах из 36 сохранились и гетеротрофные, и автотрофные организмы (табл. 2). В суспензии обнаружены водоросли с зеленым хроматофором, обесцвеченные клетки водорослей, обломки их

Некоторые характеристики МЭС сохранивших хлорофиллсодержащие клетки водорослей

Номер МЭС	рН	Еh (+мВ)	Численность водорослей, 1 мл×10 ⁵			Численность бактерий, 1 мл×10 ⁵
			без хлорофилла	с хлорофиллом	способных размножаться	
05024*	6,9	365	0	76	15	2,3
05032	6,6	350	0	12	16	5,1
05037	6,5	345	254	80	74	67
05041*	7,0	365	0	6	4	0,14
05049	7,2	330	70	10	1,8	26,5
05055	7,5	360	0	0,065	0,032	0,06
05060	7,6	320	50	5	2	2,9
05064	7,2	330	0	0,01	0,01	0,012
05076*	7,0	350	22	1	0,16	0,036
05087	7,3	350	27	2	0,6	0,5
05086*	7,5	350	13	8	0,96	0,11
06029	8,6	412	250	0,4	0,028	0,004
06030	8,0	350	2	7,5	2,3	1,3
06031	7,4	360	96	0,4	0,13	0,34
06032	6,5	360	135	11	2,7	0,45

* В МЭС наблюдалось избыточное давление газа.

Таблица 3

Содержание НОВ в различных компонентах МЭС, мг/мл

Номер МЭС	До сукцессии	После сукцессии		
	биомасса биоценоза	водоросль с хлорофиллом	обесцвеченная водоросль	детрит
05024	0,72	0,05	+	0,5
05032	0,65	0,02	+	0,6
05037	0,54	0,05	0,12	0,2
05041	0,45	0,01	0	0
05049	0,67	0,02	0,08	0
05055	0,70	+	+	0,02
05060	0,83	0,01	0,06	0
05064	0,61	+	+	0,1
05076	0,65	+	0,02	0
05087	0,45	+	0,14	0
05088	0,31	0,08	0,08	0
06029	0,31	+	0,88	0
06030	0,71	+	0,01	0,3
06032	0,65	0,04	0,51	0
06038	0,62	0,05	0,13	0,1

Примечание. Плюсом отмечено содержание меньше 0,01 мг/мл.

клеточных стенок, активнодвигающиеся палочкообразные клетки, ветви микобактерий и гифы грибов.

В табл. 3 приведены данные, характеризующие перераспределение ОВ организмов, введенных в МЭС при их составлении. НОВ, представленное биомассой в начале сукцессии, в стационарных МЭС состояло из трех компонентов: 1) биомасса биоценоза (водоросль и бактерии); 2) вещество обесцвеченных клеток водоросли; 3) детрит.

Содержание НОВ почти во всех МЭС снизилось, а в ряде МЭС (05041, 05076 и др. табл. 3) опустилось до нуля. На дне пробирок находилось

небольшое количество кристаллов солей (1 мг на весь объем суспензии), среди которых располагались 5—8 колоний водорослей диаметром около 1 мм. Автотрофом в этих МЭС была *Chlorella* 124, а среди гетеротрофов *Pseudomonas denitrificans* или *P. capsulata* — бактерии, сопутствующие этой водоросли при ее культивировании в аксенных условиях.

В этих МЭС можно было ожидать либо накопления углекислого газа, либо увеличения содержания растворенного ОВ. Углекислый газ в заметных количествах не был обнаружен. В растворе оказалось до 0,33—0,45 мг/мл органических кислот и большое количество аммиака. Реакция с реактивом Фолина указывала на содержание белковых веществ в центрифугате. Эти данные говорят о том, что микробы окислили ОВ до низкомолекулярных органических соединений. А если часть вещества окислялась до углекислого газа, то газ тут же потреблялся водорослью на фотосинтез.

Таблица 4

Видовой состав МЭС

Номер МЭС	Виды в стационарных МЭС	Содержание от общего числа бактерий	Доля бактерий в массе ценоза	Доля водоросли в массе ценоза	Элиминированные виды
05024	<i>Myrothecium</i> sp. <i>M. rubrum</i> <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Chlorella</i> 219	0,82 8,20 91,0	0,8	99,2	<i>P. denitrificans</i>
05032	<i>M. rubrum</i> <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Chlorella</i> 219	1 99	1,5	98,5	<i>S. aurantiaca</i>
05037	<i>Pseudomonas</i> sp. <i>Chlorella</i> 219	100	30	70	
05041	<i>M. rubrum</i> <i>Myrothecium</i> sp. <i>P. denitrificans</i> <i>Chlorella</i> 124	2 15 83	9,6	90,4	<i>S. myxococcoides</i> <i>M. rubens</i>
05049	<i>Alternaria</i> sp. <i>P. capsulata</i> <i>M. rubrum</i> <i>Chlorella</i> 124	1,2 98,0 0,8	51	49	<i>S. aurantiaca</i> <i>M. rubens</i>
05055	<i>Myrothecium</i> sp. <i>P. capsulata</i> <i>P. denitrificans</i> <i>M. rubrum</i> <i>Chlorella</i> 124	10,0 6,7 83,0 0,3	8,5	91,5	<i>S. aurantiaca</i> <i>M. citreum</i>
05064	<i>P. fluorescens</i> <i>P. capsulata</i> <i>M. rubens</i> <i>Chlorella</i> 124	99,9 0,08 0,01	56	44	<i>M. rubrum</i>
05076	<i>P. capsulata</i> <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Chlorella</i> 124	99 1	10	90	
05087	<i>Pseudomonas</i> sp. <i>Micrococcus</i> sp. <i>S. obliquus</i> 138	99 1	0,2	99,8	
05029	<i>Myrothecium</i> sp. <i>M. roseus</i> <i>Chlorella</i> 62	2 98	0,5	99,5	<i>S. flava</i>

Количественное распределение гетеротрофных микроорганизмов в МЭС, сохранивших водоросли, подчинено определенной закономерности. Так, бактерии рода *Pseudomonas* во всех МЭС показывали самую большую численность среди гетеротрофов — 83—99%, *M. rubrum* составлял всего 0,3—7%, *M. roseus* — 2%, грибы — 0,01—10%. *S. aurantiaca*, *S. myxococcoides*, *S. flava* оказались элиминированными (табл. 4).

Как было указано выше, в 20 вариантах МЭС водоросли элиминировались. Эти МЭС практически не в состоянии поддерживать свое существование (умирающие МЭС). В них обнаружено 3×10^3 — 4×10^6 бактерий в 1 мл. pH регистрировали на уровне 7,4—8,8; Eh — до +350 мВ. Закономерности в количественном распределении не наблюдалось. Отмечено лишь, что *P. fluorescens* занимает значительное место в нескольких ценозах. Грибы не обнаружены ни в одной МЭС.

В момент анализа в этих МЭС вещество водоросли было на разных стадиях разрушения (табл. 5). Так, в 3 вариантах МЭС отмершие клетки водорослей остались неразрушенными, в 11 же вариантах клеточные стенки водорослей разрушились, содержимое клеток частично минерализовалось. В 6 вариантах МЭС не обнаружено ни целых, ни разрушенных клеток. Соответственно и содержание НОВ было очень малым (0,05—0,09 мг/мл). Степень разрушения биомассы зависит как от вида водоросли, так и от состава гетеротрофного звена.

Очевидно, искусственно составленный ценоз из автотрофных и гетеротрофных микроорганизмов, обеспеченный достаточным количеством биогенных элементов и световой энергией, помещенный в замкнутый объем, где отсутствует приток питательных веществ и отток продуктов жизнедеятельности, будет поддерживать свое существование при наличии у него двух основных качеств: 1) неантагонистические взаимодействия

Таблица 5

Некоторые характеристики систем, утративших автотрофное звено ценоза

Номер МЭС	pH	Eh (+мВ)	НОВ, мг/мл		Численность, 1 мл $\times 10^5$	
			до сукцессии	после сукцессии	обесцвеченных клеток водоросли	бактерий
05002	7,4	370	1,16	0,28	+	11,6
05004	7,6	443	1,29	0,40	603	42
05007	7,8	355	1,32	0,40	+	6,67
05014	8,0	322	1,26	0,50	+	5,8
05016	8,0	335	1,09	0,53	+	4
05018	8,4	325	1,08	0,60	+	0,2
05019	7,5	425	1,25	0,30	1040	0
05021	7,5	343	1,12	0,33	0	11
05022	8,4	300	1,18	0,34	+	8
05025	8,4	330	1,06	0,25	0	1,2
05028	8,0	320	1,22	0,58	0	2,8
05033	7,7	335	1,27	0,26	0	0,6
05044	8,9	340	0,68	0,14	0	12
05045	8,5	342	0,64	0,07	0	0,03
05046	8,8	320	0,68	0,06	0	0,3
05051	8,8	320	0,72	0,06	0	4,4
05057	9,0	330	0,72	0,05	+	2,4
05062	8,8	328	0,72	0,09	0	0,13
05063	8,3	330	0,68	0,06	0	+
06007	7,2	420	0,94	0,63	1250	1,4

Примечание. Плюсом отмечены единичные клетки.

между видами; 2) способность гетеротрофных микроорганизмов смеси редуцировать ОВ в системе до веществ, которые могут быть использованными автотрофами для нового синтеза.

В вариантах МЭС, когда в их стационарном состоянии остались только гетеротрофы, по всей видимости ценоз не обладал названными качествами. Основной причиной, по которой эти МЭС не развились в самоподдерживающиеся, явилось сильное токсическое действие *P. fluorescens* на ряд гетеротрофных микроорганизмов. Сохранившиеся бактерии не обладали достаточным набором ферментов для редукции ОВ водородом, о чем свидетельствует зависимость степени разрушения биомассы водородом от состава гетеротрофного звена.

Наборы смесей микроорганизмов в МЭС, сохранивших автотрофы и гетеротрофы, очевидно, характеризуются неантагонистическими взаимодействиями. Это способствовало сохранению большинства видов. Однако способность разных изученных смесей микробов редуцировать биомассу водородом выражена неодинаково.

Исходя из представлений о закономерностях распределения ОВ по трофическим уровням (Одум, 1975), можно полагать, что МЭС, в которых доля биомассы гетеротрофов значительно превышает долю биомассы автотрофов, несбалансированы (под сбалансированными МЭС понимаем такие МЭС, в которых интенсивность фотосинтеза и дыхания не снижаются во времени и равны между собой). Микроорганизмы живут в них за счет потребления исходного запаса ОВ, частично восстанавливающегося продуктами фотосинтеза водородом.

Судя по данным, характеризующим структуру биоценоза (табл. 4), наиболее приближены к идеальному самоподдерживающему МЭС 05024, 05087, 06029. Такое предположение подтверждают и данные, характеризующие динамику численности организмов в МЭС, прослеженную в течение нескольких лет (в настоящей работе эти данные не обсуждаются).

Замкнутые самоподдерживающиеся МЭС на основе микроскопических организмов могут быть с успехом использованы как объект для исследования функционирования микробных сообществ. На основе полученных данных можно сделать следующие выводы:

1) в смеси автотрофных и гетеротрофных организмов в замкнутом объеме, получающем извне световую энергию, может установиться обмен веществом между автотрофным и гетеротрофным звеньями. Это приводит к развитию самоподдерживающихся МЭС;

2) в МЭС, способных к долговременному самоподдержанию жизнедеятельности, масса автотрофов в 10—100 раз больше массы гетеротрофов;

3) гетеротрофное звено биоценоза имеет доминантный по численности вид, составляющий ~90% численности гетеротрофов;

4) из 18 видов микроскопических организмов, использованных для составления МЭС, 14 видов оказались способными образовывать в различных сочетаниях биоценозы замкнутых МЭС. Наиболее благоприятными видами для составления гетеротрофного звена были *M. rubrum*, *P. capsulata*, *Myrothecium* sp. и др. Плохо или совсем не приживаются в МЭС *S. aurantiaca*, *S. mucococcoides*. Неблагоприятное влияние на биоценоз МЭС оказывают *P. fluorescens*, *S. flava*.

ЛИТЕРАТУРА

- Ковров Б. Г., Мамавко Г. А., Фиштейн Г. Н. Экспериментальные модели замкнутых экосистем из одноклеточных организмов. — В кн.: Материалы IX всесоюзного рабочего совещания по вопросу круговорота веществ в замкнутой системе на основе жизнедеятельности низших организмов. Киев, 1976, 61—63.
- Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. М.—Л., 1949.
- Одум Е. Основы экологии. М., 1975.

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Baltimore, 1974.

Beyers, R. J. The microcosm approach to ecosystem biology. — Amer. Biol. Teach., 1964, 26, 491—498.

Ferens, M. G., Beyers, R. J. Studies of a simple laboratory microecosystem: effects of stress. — Ecology, 1972, 53, 709—713.

Neil, W. E. Experimental studies of microcrustacean competition, community composition and efficiency of resource utilization. — Ecology, 1975, 56, 809—826.

Nixon, S. W. A synthetic microcosm. — Limnol. Oceanogr., 1969, 14, 142—145.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
30/III 1983

Galina FISTEIN

MIKROORGANISMIDE KOOSLUSTE STRUKTUUR SULETUD MIKROÖKOSÜSTEEMIDES

Veekeskonnas olevate autotroofsete ja heterotroofsete mikroorganismide (vetikate, bakterite, seente) 36 seguvarianti suleti katseklaasidesse, mida valgustati pidevalt. Sel teel saadi mikroökosüsteemid. Kolme aasta pärast täheldati, et 20 mikroökosüsteemis olid vetikad hukkunud. Ülejäänud süsteemid olid enesealalhoiuks võimelised seetõttu, et vetikad sidusid fotosünteesiprotsessis valgusenergiat. Säilinud mikroökosüsteemides moodustas autotroofide biomass 90—99%, heterotroofide biomass 1—10%. Heterotroofide lüli koosnes 90% ulatuses dominantsest liigist, kõige sagedamini pseudomonaadidest.

Galina FISHTEIN

THE STRUCTURE OF A MICROSCOPIC ORGANISMS COMMUNITY OF CLOSED MICROECOSYSTEMS

36 mixtures of autotrophic and heterotrophic organisms in an aquatic medium were sealed in glass tubes and placed under light. Such systems are called microecosystems. In the course of three years it was found that autotrophic organisms (green algae) died in 20 microecosystems. Other microecosystems were able to support their own existence due to the photosynthesis of the algae and the breathing of bacteria. The biomass of the autotrophs was 90—99%, and that of the heterotrophs 1—10% in the steady state of microecosystems.