

ЕВА ФИШЕР

ПРИМЕНЕНИЕ РАДИОАКТИВНОГО ИЗОТОПА УГЛЕРОДА C^{14}
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕРЕНОСА ЭНЕРГИИ
В ПИЩЕВОЙ ЦЕПИ: ГЛЮКОЗА — AZOTOBACTER AGILE —
TETRAHYMENA PYRYFORMIS

(Представлено академиком Б. Е. Бызовским 28 IX 1970)

Темой настоящей работы является исследование эффективности использования инфузорией энергии, аккумулированной в телах бактерий. Из результатов наших предыдущих работ (см., например, ⁽¹⁾) следует, что энергия, рекупированная бактериями в течение года в некоторых водоемах, сравнима с энергией первичной продукции фитопланктона. Однако остается неясным, в какой степени организмы более высокого трофического уровня в состоянии использовать эту энергию. В настоящей работе этот вопрос рассмотрен на примере пищевой цепи:

глюкоза — *Azotobacter agile* — *Tetrahymena pyruformis*

Применена формула коэффициента использования потребленной пищи на рост K_1 , т. е. отношение продукции P к потреблению пищи R . Исследования проводились в двух сериях: в первой определялся K_1 для *Azotobacter agile* по отношению к энергии глюкозы, во второй — K_1 при использовании *Tetrahymena pyruformis* энергии, аккумулированной *Azotobacter agile*. Опыты второй серии проводились в условиях, при которых популяция *Azotobacter* находилась в стационарной фазе, когда процессы обмена веществ заторможены. В связи с этим при кормлении *Tetrahymena* этой популяцией не было необходимости вносить поправку на дыхание *Azotobacter*. Применение изотопа углерода C^{14} позволяет по радиоактивности изучаемых объектов проследить перемещение конструктивного углерода. Так как целью работы было исследование потока энергии, то следовало определить зависимость между изменениями содержания углерода и энергии каждого звена, т. е. количество энергии, приходящейся на 1 мг ассимилированного углерода, выраженной в калориях. Для глюкозы введен символ k_{E_r} , для бактерий k_{E_b} , для *Tetrahymena* принято k_{E_T} . Одна грамм-молекула глюкозы, содержащая шесть атомов углерода с общим весом 72 000 мг, дает при окислении 678 000 кал.; отсюда следует, что k_{E_r} равно 9,4 кал/мг.

Из литературных данных ⁽²⁾ по химическому составу *Azotobacter agile*, а также учитывая содержание углерода в липидах, углеводах и белках ⁽³⁾, было подсчитано, что содержание углерода в сухом веществе *Azotobacter* равно 50,6%, а калорийность сухого вещества 3,96 кал/мг. Отсюда следует, что для *Azotobacter* значение $k_E = 7,82$ кал/мг. Для *Tetrahymena pyruformis*, по данным ⁽⁴⁾, можно принять, что содержание углерода в сухом веществе ~ 50%, а калорийность ее сухой массы равна 5,8 кал/мг ⁽⁵⁾. Следовательно, величину k_{E_T} можно принять равной 11,6 кал/мг. Удельная активность применяемой глюкозы равнялась

38,46 $\mu\text{C}/\text{мг}$. Поскольку в глюкозе содержится 40% углерода, радиоактивность, приходящаяся на 1 мг углерода, равна $38,46 : 0,4 = 96,1 \mu\text{C}/\text{мг}$ углерода. Таким образом, радиоактивности 96,1 С соответствует 9,4 кал., а 1 μC равен $98 \cdot 10^{-3}$ кал. Для обозначения этой энергии мы примем символ $k_{p\gamma}$.

В проведенных опытах *Azotobacter* рассматривался как потребитель глюкозы и как пища *Tetrahymena*. В первом случае нас интересовала «энергетическая цена» ($k_{p\delta}$) его чистой или нетто-продукции, во втором — «энергетическая цена» его биомассы. Так как рост *Azotobacter* шел на основе ассимиляции углерода глюкозы, радиоактивность углерода продукции *Azotobacter* была идентична радиоактивности углерода глюкозы и равнялась 96,1 μC на 1 мг углерода. Так как на 1 мг углерода, ассимилированного *Azotobacter*, приходится 7,82 кал., изменению радиоактивности бактерий на 1 μC сопутствует изменение энергии на $81 \cdot 10^{-3}$ кал. Для обозначения этой энергии мы применяем символ $k_{p\delta}$. Так как 98,5% биомассы бактерий было выращено на меченой глюкозе, то можно принять, что радиоактивность 1 мг углерода биомассы бактерий, как и продукции, идентична радиоактивности 1 мг углерода глюкозы. Следовательно, и здесь можно принять, что $k_{p\delta} = 81 \cdot 10^{-3}$ кал. В проведенных опытах с *Tetrahymena pyriformis* нас интересовала лишь ее нетто-продукция, углерод которой был почерпнут исключительно из клеток бактерий. Следовательно, удельная активность его равнялась 96,1 $\mu\text{C}/\text{мг}$. Так как выше было показано, что $k_{E\gamma} = 11,6$ кал/мг, получаем, что прирост и радиоактивность *Tetrahymena pyriformis* на 1 μC , обозначаемый $k_{p\delta}$, равен $120 \cdot 10^{-3}$ кал.

В предварительных опытах определялось время деления *Azotobacter* в условиях эксперимента, что было нужно для подбора исходных количеств глюкозы и числа клеток *Azotobacter*. Кроме этого, было определено время, за которое предлагаемое количество глюкозы исчерпывается развивающейся популяцией *Azotobacter agile* и развитие бактериальной популяции затормаживается. Это время служило для мечения *Azotobacter* радиоактивной глюкозой. Бактерии за этот срок должны делиться по крайней мере шесть раз, что позволяет считать, что почти все бактериальные клетки ($\sim 98,5\%$) были мечены углеродом C^{14} . Перед началом эксперимента был проконтролирован также период стационарной фазы популяции, чтобы время кормления *Tetrahymena* клетками *Azotobacter* приходилось на этот период.

Предварительные опыты показали, что в условиях эксперимента через 48 час. число клеток *Azotobacter* устанавливалось на одном уровне и это состояние длилось свыше 24 час. до почти полного расходования глюкозы среды. Следовательно, в этот период можно было не опасаться увеличения биомассы *Azotobacter* во время эксперимента. Этот факт позволял избежать поправок на размножение и дыхание жертв.

В предварительных опытах было установлено при 26° также время деления *Tetrahymena* — при кормлении и при голодании. Это позволило определить длительность безопасного для организма голодания и облегчило подбор такого количества исходного *Tetrahymena*, чтобы после окончания эксперимента число особей не превышало плотности, встречаемой в естественных условиях.

В первой серии опытов к суспензии *Azotobacter* в физиологическом растворе объемом в 200 мл с плотностью клеток, приведенной в таблице, было добавлено 0,26 мг глюкозы с радиоактивностью 10 μC . По истечении 24 час. при 26° суспензию фильтровали через мембранный фильтр и определяли плотность бактериальных клеток, а также радиоактивность фильтрата и осадка на фильтре. Измерения были повторены через 24 часа (см. таблицу). За время экспозиции (24 часа) радиоактивность фильтрата снизилась (убыль глюкозы), в то время как радиоактивность осадка на

фильтре возросла (прирост популяции *Azotobacter*). Рассчитанный на основе измерения радиоактивности коэффициент K_1 для *Azotobacter* равнялся при двух экспериментах 21,2 и 24,2% соответственно.

Исследования радиоактивности осадка и фильтрата, проведенные через 48 час., показали почти полное исчезновение радиоактивности фильтрата, что указывало на исчерпание запасов глюкозы. Как следовало из предварительных измерений в подобранных пропорциях глюкозы и бактерий, *Azotobacter* должен делиться во время эксперимента по крайней мере шесть раз в логарифмической фазе развития, поэтому метку можно считать полной.

Во второй серии опытов к культуре бактерий с исчерпанными запасами глюкозы, приготовленной в первой серии опытов, добавили *Tetrahymena* в количестве 280 экземпляров на 1 мл. Через 24 часа при 26° культуру

Таблица 1

Звено	Опыт	Исходное состояние		Конечное состояние (через 24 часа)		K ₁ , %
		количество в 1 мл	радиоактив- ность, имп/мин·мл	количество в 1 мл	радиоактив- ность, имп/мин·мл	
Первая серия						
Глюкоза	1	1,3 мг	3215	—	622	—
	2	1,17 мг	2893	—	655	—
Azotobacter	1	36,8·10 ³	—	4·10 ³	669	21,2
	2	29,8·10 ³	—	3,3·10 ³	661	24,3

$$K_{16} = \frac{\Delta R_6}{\Delta R_T} \cdot \frac{K_{P6}}{K_{PT}} \cdot 100\%; K_{P6} = 81 \cdot 10^{-3} \text{ кал/}\mu\text{C}; K_{PT} = 98 \cdot 10^{-3} \text{ кал/}\mu\text{C}$$

Вторая серия

<i>Azotobacter</i> agile	1	$6 \cdot 10^3$	733	—	133	—
	2	$5,5 \cdot 10^3$	721	—	122	—
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	1	280	—	—	137,5	32,7
	2	280	—	—	146,8	35,3

$$K_{1T} = \frac{\Delta R_T}{\Delta R_6} \cdot \frac{K_{PT}}{K_{P6}} \cdot 100\%; K_{PT} = 120 \cdot 10^{-3} \text{ кал/}\mu\text{C}; K_{P6} = 81 \cdot 10^{-3} \text{ кал/}\mu\text{C}$$

пропустили через фильтр, задерживающий *Tetrahymena*, но пропускающий бактериальные клетки. Полученный раствор, содержащий бактерии, провели через фильтр, задерживающий клетки *Azotobacter*. Из результатов измерений радиоактивности осадка *Tetrahymena* и осадка *Azotobacter*, приведенных в таблице, видно, что во время экспозиции радиоактивность бактериального осадка уменьшалась, а радиоактивность осадка *Tetrahymena* увеличивалась. Рассчитанный на основе этого коэффициент K_1 для *Tetrahymena* составил в двух экспериментах 32,5 и 35,5% соответственно. Следовательно, в проведенных исследованиях количество энергии, аккумулированной *Tetrahymena* из глюкозы посредством *Azotobacter*, равнялось в среднем 7,9%.

За предоставленную возможность выполнения работы в Зоологическом институте Академии наук СССР в Ленинграде, а также за помощь в работе и консультации приношу сердечную благодарность профессору Г. Г. Винбергу.

Зоологический институт
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
2 XI 1970

Институт экспериментальной биологии
им. Нейского
Польской академии наук

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ E. Fischer, Produkcja chemosyntezujących bakterii, jako ogniwo odzyskiwania energii przez biocenozę wodną. Polskie Archiwum Hydrobiologiczne, Warszawa, 1970.
² A. Rippel-Baldes, Mikrobiologia ogólna, Warszawa, 1958. ³ M. Kleiber, The Fire of Life, N. Y., 1961. ⁴ M. Florkin, B. T. Scheer, Chemical Zoology, N. Y.—London, 1967. ⁵ L. B. Slobodkin, S. Richman, Nature, 191, 299 (1961).