

Г. И. ГОГОВА, Э. М. ГАЛИМОВ, М. В. ИВАНОВ

ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ ИЗОТОПОВ УГЛЕРОДА ФОТОТРОФНЫМИ
БАКТЕРИЯМИ *Ectothiorodospira shaposhnikovii*

(Представлено академиком А. А. Басовым 19 VI 1972)

Данные по изотопному составу углерода карбонатов, нефти и горючих газов довольно широко используются для выяснения происхождения различных месторождений полезных ископаемых и, в частности, для выявления роли живых организмов в геохимических процессах ⁽¹⁾. Между тем экспериментальные данные, характеризующие направление и величину фракционирования изотопов углерода C^{12} и C^{13} при биологических процессах, весьма немногочисленны. Сравнительно подробно этот процесс исследован только на примере фотосинтеза зеленых растений. Показано, что при ассимиляции CO_2 происходит фракционирование изотопов углерода, в результате чего углерод растительной клетки обогащается легким изотопом C^{12} приблизительно на 2–3‰ по сравнению с исходной углекислотой ⁽¹⁾.

Метаболизм бактерий также сопровождается фракционированием изотопов C^{12} и C^{13} . Изотопный эффект был обнаружен при метанообразовании на среде с метанолом. Образующий метан обогащался изотопом C^{12} по отношению к исходному метанолу на 8–9‰ ⁽²⁾. Показано также, что при анаэробном метаболизме лактата растущими или покоящимися клетками *Desulfovibrio desulfuricans* выделяемая CO_2 и биомасса клеток обогащаются C^{12} по сравнению с углеродом карбоксильной группы лактата ⁽³⁾. В последнее время получены данные, указывающие на наличие эффекта фракционирования при окислении бактериями метана и пропана ⁽⁴⁾. Более 10 лет назад был также отмечен изотопный эффект при фотосинтезе *Chromatium* sp. ⁽⁵⁾, однако более подробно это явление не изучено.

Задачей нашей работы было изучение изотопного эффекта у фототрофных серобактерий *Ectothiorodospira shaposhnikovii* в динамике роста.

Культуру *Ect. shaposhnikovii* штамм 1 (любознательную нам проф. Е. Н. Кондратьевой) выращивали на среде Ларсена ⁽⁶⁾, содержащей 0,5% бикарбоната и 0,4% тиосульфата (рН 8,2), в анаэробных условиях на свету ($30 \cdot 10^3$ эрг/(см²·сек) при 30° в стеклянных колбах-матрицах емкостью 1,5 л. Пробы отбирали по мере роста культуры, который контролировался по числу клеток и по потреблению гипосульфита и углерода. Клетки для определения изотопного состава углерода биомассы отделяли от среды центрифугированием, промывали физиологическим раствором и высушивали при 20°. Изотопный состав углерода биомассы определяли относительным компенсационным методом на масс-спектрометре МИ-1305 после предварительного сжигания биомассы до CO_2 ⁽¹⁾. Для изотопного анализа неорганического углерода среды культуральную жидкость подкисляли в приборе для отгонки ⁽⁷⁾, а углекислоту улавливали 20% раствором гидроксида бария.

Результаты приводятся в величинах δC^{13} , которые рассчитывались в процентах по формуле
$$\delta C^{13} = \frac{C^{13}/C^{12}_{\text{обр}}}{1123,72 \cdot 10^{-5}} - 1,$$
 величина в знаменателе — это отношение C^{13}/C^{12} стандарта PDB, для которого $\delta C^{13} = 0$ ⁽¹⁾.

Как видно из табл. 1, при культивировании *Ect. shaposhnikovii* наблюдается значительный по величине изотопный эффект. Углерод биомассы во всех случаях обогащен изотопом C^{12} . Различие в изотопном составе углерода остаточного бикарбоната среды и углерода биомассы составляет $\Delta C^{13} = \delta C^{13}_{\text{бикарб}} - \delta C^{13}_{\text{биом}} = 1,1 \div 1,5\%$. По мере развития бактерий углерод остаточного бикарбоната постепенно обогащается C^{13} , что является очевидным следствием ассимиляции бактериями преимущественно изотопно легкого углерода.

Углерод биомассы несколько утяжеляется к концу эксперимента (8 сутки культивирования), что в первую очередь вызвано извлечением

Таблица 1

Изменение изотопного состава углерода бикарбоната питательной среды и биомассы *Ect. shaposhnikovii* в процессе развития

Время культивирования, дни	Вес сухой биомассы, мг/л	δC^{13} , %		Коэффициент фракционирования, ΔC^{13} *
		биомассы	углерода достаточного бикарбоната	
О п ы т I				
3	45	-2,66	-1,48	1,18
5	115	-2,70	-1,30	1,40
6	180	-2,76	—	—
8	300	-2,68	-1,19	1,49
О п ы т II				
5	35	-2,86	-1,70	1,16
6	80	-2,85	-1,68	1,17
7	106	-2,74	-1,59	1,15
8	166	-2,62	-1,50	1,12

* δC^{13} исходного $NaHCO_3 = -1,85\%$.

легкого углерода в первые дни и утяжелением углерода остаточного бикарбоната. В то же время коэффициент фракционирования, т. е. разница в изотопном составе углерода бикарбоната и биомассы для каждой серии опытов, сохраняется практически постоянным.

Обращает на себя внимание более значительная величина коэффициента фракционирования изотопов в случае быстро развивающейся культуры $C^{13}_{\text{средн}} = 1,4-1,45\%$ против $C^{13}_{\text{средн}} = 1,12-1,18\%$ для медленно развивающейся культуры.

Таким образом, в процессе биосинтеза автотрофных микроорганизмов наблюдается изотопный эффект, состоящий в обогащении биомассы легким изотопом углерода по сравнению с бикарбонатным субстратом. Изотопический эффект бактериального биосинтеза по величине и знаку близок изотопному эффекту фотосинтеза растений (развивающихся на бикарбонатном субстрате). В последнем случае изотопическое смещение составляет $1,4-2,0\%$.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
Академии наук СССР
Пушино-на-Оке

Поступило
2 VI 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Э. М. Галимов, Геохимия стабильных изотопов углерода, М., 1968.
- ² W. D. Rosenfeld, S. R. Silverman, Science, **130**, № 3389, 1658 (1959).
- ³ J. R. Kaplan, S. G. Rittenberg, J. Gen. Microbiol., **34**, 214 (1964).
- ⁴ Т. А. Крылова, В. М. Овсянников, А. В. Грачев, Сборн. Ядерно-геофизические, геохимические и изотопные методы в геологии, М., 1968.
- ⁵ J. A. Kaplan, T. A. Rafter, J. R. Hulston, New Zealand J. Sci., **3**, № 2 (1960).
- ⁶ H. Larsen, J. Bacteriol., **64**, 187 (1952).
- ⁷ Ю. И. Сорокин, Микробиология, **39**, в. 2, 204 (1960).