

А. М. ЗЯКУН, В. А. БОНДАРЬ, А. Н. НОЖЕВНИКОВА

О ФРАКЦИОНИРОВАНИИ СТАБИЛЬНЫХ ИЗОТОПОВ УГЛЕРОДА СО БАКТЕРИЯМИ

(Представлено академиком Е. Н. Мишустиним 6 XI 1975)

В настоящее время в литературе (¹⁻³) обсуждается вопрос о роли атмосферного угарного газа (СО) в круговороте углерода в природе.

По оценочным данным годовая продукция СО составляет 10^7 – 10^9 т/год, а скорость его регенерации, определенная на основе использования стабильных и радиоактивных изотопов, достигает 10^7 – 10^8 т/мес (⁴).

Исходя из предположения, что изотопный состав углерода СО отражает изотопный состав углерода источника его образования, было высказано предположение о двух основных путях происхождения СО в атмосфере: угарный газ, обогащенный легким изотопом углерода ¹²С, образуется в результате окисления метана, а СО, обогащенный тяжелым изотопом углерода, образуется при окислении органических веществ морского или терригенного происхождения.

Однако в природных условиях, наряду с процессами образования СО, существуют процессы, связанные с его потреблением. Так, было показано, что в почвах существует большая группа микроорганизмов, способных использовать СО как источник энергии, получаемой при окислении его до СО₂ (⁵).

На примере ряда микроорганизмов (⁶⁻⁸) было показано, что жизнедеятельность микробных клеток может вызвать изменение изотопного состава субстрата, причем направление указанного изменения определяется характером субстрата и типом микроорганизмов. Поэтому можно полагать, что наблюдаемая сезонная вариабельность изотопного состава углерода СО обусловлена не только изотопным составом источника его образования, но и изменением изотопного состава в результате потребления СО.

Целью настоящего исследования явилось определение величины и направленности изменения изотопного состава углерода угарного газа при его утилизации выделенными из почв карбоксидобактериями.

В экспериментах использовали карбоксидобактерии *Pseudomonas carboxydoflava* Z-1107 и *Pseudomonas gazotrophica* Z-1156. Культуры выращивали на жидкой минеральной среде в колбах Эрленмейера (¹⁰). Состав газовой фазы был 80% СО, 20% О₂, следы СО₂ и N₂. Время культивирования составляло 30 дней. Полученную биомассу микроорганизмов и оставшийся СО сжигали в атмосфере кислорода при $T=1000^\circ$ до СО₂, выделив перед этим газообразную метаболическую двуокись углерода путем вымораживания ее при температуре жидкого азота.

Измерение изотопного состава углерода проводили на масс-спектрометре СН7 (фирма «Varian») двухлучевым методом путем поочередного сравнения отношения интенсивностей пиков с m/e 44 и 45 для исследуемого образца и стандарта (^{11, 12}). Величины

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{(I_{44}/I_{45})_{\text{обр}} - (I_{44}/I_{45})_{\text{ст}}}{(I_{44}/I_{45})_{\text{ст}}} 100\text{‰}$$

определяли относительно стандарта — РДВ (¹³).

Результаты исследований изотопного состава углерода угарного газа при окислении его микроорганизмами приведены в табл. 1.

Из табл. 1 видно, что по мере потребления CO микроорганизмами изотопный состав оставшейся части газа обедняется ^{12}C , причем это обеднение тем больше, чем больше доля потребленного угарного газа.

Величина α , характеризующая фракционирование изотопов углерода CO , определяется из следующего выражения:

$$\frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{кон}}}{1000} + 1 = \left(\frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{исх}}}{1000} + 1 \right) (1-F)^{(1-\alpha)/\alpha},$$

где $\delta^{13}\text{C}_{\text{исх}}$ и $\delta^{13}\text{C}_{\text{кон}}$ — характеристики изотопного состава углерода исходного и конечного CO , а F — его потребленная часть. $\alpha = K_1/K_2$, где K_1 — константа скорости включения ^{12}CO , а K_2 — константа скорости включения ^{13}C .

Таблица 1

Изотопный состав углерода ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) угарного газа, углекислоты и биомассы карбоксидобактерий *

Микроорганизмы	Исходный CO	Конец эксперимента			Потребление от исходного количества CO , %	Коэффициент разделения (α)
		CO	CO_2	С биомассы		
<i>Pseudomonas carboxydoflava</i> Z-1107	-41,1	-37,1	-38,4	-55,9	15-20	1,019
<i>Pseudomonas gazotrophica</i> Z-1156	-19,1	-6,5	-19,0	-49,4	50	1,019

* Приведены средние значения 3 параллельных опытов.

Найденные указанным образом величины коэффициента α для CO являются близкими значениям для кинетического изотопного эффекта в случае молекулярной диффузии угарного газа через пористые перегородки, равного $\alpha_{\text{кин}} 1,018$. Поэтому можно полагать, что изменение изотопного состава CO при микробиологическом его потреблении определяется кинетическим изотопным эффектом, связанным с переносом газа в микробную клетку.

Согласно изотопному балансу для карбоксидобактерий *Ps. carboxydoflava* Z-1107 величина $\delta^{13}\text{C}$ углекислоты, образуемой при окислении CO , должна быть -55,2‰, а для *Ps. gazotrophica* Z-1156 -31‰.

Однако как в первом, так и во втором случае газообразная углекислота в конце эксперимента заметно обогащена тяжелым изотопом ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$ равно -38 и -19‰ соответственно; табл. 1).

Отмеченное отклонение изотопного состава углекислоты от рассчитанного объясняется тем, что при развитии карбоксидобактерий происходит не только образование CO_2 за счет окисления CO , но и активное потребление углекислоты в процессе хемосинтеза. Сопоставление величины $\delta^{13}\text{C}$ углерода биомассы с величинами $\delta^{13}\text{C}$ углекислоты в конце эксперимента (табл. 1) показывает, что при втором процессе происходит избирательное использование углерода ^{12}C , в результате чего биомасса сильно обогащается легким изотопом, а остаточная углекислота соответственно утяжеляется по сравнению с расчетными данными.

Таким образом, в результате проведенных исследований удалось показать, что при развитии карбоксидобактерий наблюдается два процесса фракционирования стабильных изотопов углерода: при окислении CO до CO_2 и при использовании CO_2 в процессе хемосинтеза. Конечным результатом обоих процессов является образование изотопно-легкой биомассы

бактерий и утяжеленного по изотопному составу остаточного угарного газа. Отсюда следует, что наблюдаемые сезонные изменения изотопного состава углерода СО в атмосфере могут определяться не только изотопным составом источников его образования, но и процессами микробиологического потребления этого газа.

Авторы выражают благодарность М. В. Иванову и Г. А. Заварзину за полезные советы при обсуждении экспериментального материала настоящего сообщения.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
Академии наук СССР
Пущино Московской обл.
Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
31 X 1975

ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. W. Swinnerton, V. J. Linnenbom, R. A. Lamontagne, Science, v. 167, 984 (1970).
² W. Seiler, Tellus, v. 26, № 1-2, 116 (1974). ³ B. Weinstock, T. I. Chang, Tellus, v. 26, № 1-2, 108 (1974). ⁴ C. M. Stevens, L. Krout et al., Earth Plant Sci. Letters, v. 16, 147 (1972). ⁵ А. Н. Ножевникова, Г. А. Заварзин, Изв. АН СССР, сер. биол., т. 3, 436 (1974). ⁶ G. Jones, R. Starkey, Appl. Microbiol., v. 5, № 2, 111 (1957).
⁷ I. Kaplan, T. Rafter, Science, v. 127, № 3297, 517 (1958). ⁸ В. Л. Мехтиева, Геохимия, т. 1, 61 (1964). ⁹ Г. И. Гоголова, Э. М. Галимов, М. В. Иванов, ДАН, т. 208, № 5, 432 (1973). ¹⁰ А. Н. Ножевникова, Изв. АН СССР, сер. биол., т. 6, 878 (1974).
¹¹ K. Habfast, Zs. Instrumentenkunde, B. 68, 82 (1960). ¹² Э. М. Галимов, Геохимия стабильных изотопов углерода, М., «Недра», 1968. ¹³ H. Craig, Geochim. et cosmochim. acta, v. 12, 133 (1957).