

13. Rogowsky P. M., Liu J. Y., Manning S. et al. Structural heterogeneity in the R173 family of rye-specific repetitive DNA sequences // Plant Mol. Biol. – 1992. – **20**, No 1. – P. 95–102.
14. Зайцев В. С., Хавкин Э. Е. Идентификация генотипов растений с помощью ПЦР-анализа рассеянных повторяющихся последовательностей R173 // Докл. РАСХН. – 2001. – № 2. – С. 3–5.
15. Ma J., Bennetzen J. L. Rapid recent growth and divergence of rice nuclear genomes // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2004. – **101**, No 34. – P. 12404–12410.

ВНИИРиса, Краснодар  
Московский государственный  
университет биотехнологий

Поступило в редакцию 30.11.2006

УДК 582.26/.28:546.221.1(262.5)

© 2007

Академик НАН Украины Ю. П. Зайцев, академик НАН Украины  
Г. Г. Поликарпов, член-корреспондент НАН Украины В. Н. Егоров,  
Б. Г. Александров, О. П. Гаркуша, Н. И. Копытина,  
А. В. Курилов, Д. А. Нестерова, Л. М. Нидзвецкая,  
С. Е. Никонова, И. Г. Поликарпов, В. Н. Поповичев, Е. М. Руснак,  
Н. А. Стокозов, Н. Г. Теплинская, Л. М. Теренько

## Средоточие останков оксибионтов и банк живых спор высших грибов и диатомовых в донных отложениях сероводородной батиаля Черного моря

*For the first time, the cultures of aerobic species of fungi and diatoms from spores collected in bottom sediments in the anaerobic hydrogen sulphide zone of the Black Sea at depths from 800 to 2100 m are obtained.*

После открытия сероводорода в толще Черного моря в 1890 г. стало ясно, что оксибионты в ней обитать не могут [1–5]. И действительно, за все время научных исследований представителями разных стран (в течение 135 лет) ни в одной экспедиции не было фактов сбора жизнеспособных организмов-оксибионтов из аноксической глубоководной зоны Черного моря [6]. Вместе с тем учение об анабиозе стало научной основой для поисков живых существ, способных впадать в состояние аноксибиоза [7] и пребывать в нем в различных экстремальных условиях [8, 9]. В. И. Вернадский обращал внимание на то, что “наблюдается латентная жизнь спор, которая сосредоточена и в морских илах и осадках...” [10, с. 156].

Учитывая оба вышеизложенных научных обобщения, можно было ожидать, во-первых, подтверждения отсутствия живых эукариот и, во-вторых, обнаружения их жизнеспособных спор и цист в глубоководных осадках, в пелоконтуре, батиаля Черного моря, если эти покоящиеся стадии благополучно достигают его дна. Выяснению этих вопросов посвящена настоящая работа.

В отличие от ситуации с аноксическими условиями на дне мелководного (15–20 м) эстуария реки, где длительно сохраняются покоящиеся яйца зоопланктона [9], ситуация для покоящихся стадий низших растений и беспозвоночных животных на глубинах в 1000–2000 м Черного моря должна считаться экстремальной. Степень ее экстремальности определяется

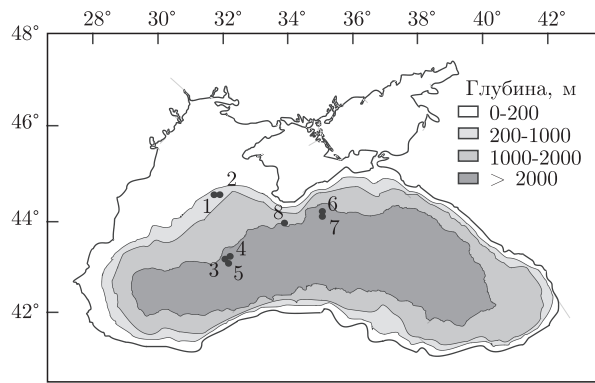


Рис. 1. Места отбора проб (станции 1–8) грунта в сероводородной батиали Черного моря в июле 2005 г.

трудностями или полной невозможностью возвращения в исходную окислительную среду обитания.

Действительно, отсутствие в сероводородной зоне условий для жизни оксифилов не должно касаться тех из них, которые могут попадать на дно батиали Черного моря уже в состоянии анабиоза или впадают в состояние аноксифиоза при контакте с сероводородной средой при погружении в нее из окислительной зоны. Аноксические условия не могут, в принципе, быть препятствием для их пребывания неопределенно долгое время в состоянии “ни жизни — ни смерти” в “ожидании” своего шанса (пусть небольшого, но отличного от 0) для переноса и выноса теми или иными физическими факторами вновь в кислородную зону в другом месте и в другое время. Заметим, что это — частный случай среди всех мыслимых вариантов переноса анабионтов в любых экстремальных средах — от земных условий до условий открытого космоса.

В связи с отсутствием в научной литературе убедительных сведений о сборах живых оксифилов, в том числе в состоянии их анабиоза, из аноксической глубоководной зоны Черного моря мы провели с помощью имеющегося в настоящее время оборудования ориентировочные экспедиционные исследования для восполнения данного пробела. В нашу задачу входило выяснение, встречаются ли в изучаемом районе бентиальной сероводородной области Черного моря организмы-оксифилы, а также, главным образом, их покоящиеся стадии, которые способны ожить и развиваться при перенесении в нормальные для них условия среды.

Исследование в пелоконтуре сероводородной батиали Черного моря было предложено Ю. П. Зайцевым и Г. Г. Поликарповым как дальнейшее развитие изучения контурных сообществ [11, 12], концепция которых идеологически восходит к учению В. И. Вернадского [10] о биосферной важности граничных форм жизни в океане. Исследования в данной области неоднократно проводились этими авторами, а их результаты давали все основания говорить о перспективности выбранного направления научного поиска для развития биологии и экологии моря [13, 14].

В период с 20 по 27 июля 2005 г. с борта НИС “Профессор Водяницкий” с помощью геологической трубки (внутренний диаметр 127 мм) на восьми станциях, расположенных на глубинах от 809 до 2104 м, были отобраны (работы проводил В. Н. Поповичев) пробы грунта из верхнего слоя 0–5 см (рис. 1).

Для бактериологических посевов разбавляли 1 г ила в 100 мл стерильной морской воды. Учет численности аэробных и анаэробных гетеротрофных бактерий осуществлялся посевом

на поверхность рыбопептонного агара в чашках Петри с дальнейшей их инкубацией в анаэробных и аэробных условиях при 11–12 °С. Была выделена коллекция массовых культур гетеротрофных бактерий (23 штамма аэробов и 19 штаммов анаэробов), у которых изучены некоторые культуральные и морфологические характеристики.

Определение численности бактерий группы кишечной палочки проводилось с использованием среды Эндо в чашках Петри с инкубацией посевов в течение 24 ч при 37 °С. Подтверждением принадлежности микроорганизмов именно к этой группе служило проведение оксидазного теста.

С целью выявления спор и гифальных клеток грибов образцы глубоководного грунта массой 5–10 мг (3 повторности) предварительно исследовались методом прямого микроскопирования, а основной материал (1,8–4,5 г) подвергался инкубированию. Методом прямого микроскопирования обнаружено 15 видов грибов. Плотность спор и клеток гиф (пропагул — структур грибов, способных дать начало новому организму) определяли на 1 г сухого грунта, который равнялся 1,4 г влажного грунта (табл. 1).

Для инкубирования образцы грунта помещали в чашки Петри с субстратами-“приманками”, в качестве которых использовали полоски фильтровальной бумаги и опилки древесины дуба. Добавляли 20–30 мл стерильной морской воды. Чашки Петри, приманки и морскую воду стерилизовали в сушильном шкафу при 180 °С в течение 2 ч.

Посев грунта со ст. 2 был произведен 14 сентября 2005 г., а последний просмотр проб — 31 мая 2006 г. Результат получен положительный: рост стерильного мицелия. Посев грунта со ст. 1, 3, 4, 5, 6, 7 и 8 был произведен 18 и 20 января 2006 г. Во всех случаях, кроме пробы со ст. 5, получен положительный результат. Первые конидиальные спороношения

Таблица 1. Количество спор и гифальных клеток высших грибов (экз./г) в образцах поверхностного грунта из батиаля Черного моря

Таксон	Номер станции							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Отдел Ascomycota								
<i>Glioniella</i> sp.	0	0	0	0	5	0	0	0
<i>Leptosphaeria albopunctata</i>	0	5	0	0	5	0	0	0
<i>Leptosphaeria</i> sp. 1	0	0	4	0	0	0	0	0
<i>Leptosphaeria</i> sp. 2	0	0	0	0	5	0	0	0
<i>Pleospora</i> sp.	0	0	4	0	0	0	0	0
Формальная группа Anamorphic Fungi (Mitosporic, Deuteromycotina, Deuteromycetes или Fungi Imperfecti)								
<i>Alternaria alternata</i>	0	0	4	0	0	0	0	0
<i>Diplodia oraemaris</i>	0	0	4	8	0	0	0	0
<i>Cumulospora varia</i>	0	0	4	0	0	0	0	0
<i>Camarosporium metableticum</i>	4	0	0	0	0	0	0	0
Fungi g. sp. 1	0	5	0	0	0	0	0	0
Fungi g. sp. 2	0	5	0	0	0	0	0	0
Fungi g. sp. 3	0	5	0	0	0	0	0	0
Fungi g. sp. 4	4	0	4	0	0	0	0	0
Fungi g. sp. 5	0	0	0	0	0	0	7	5
Клетки гиф	84	85	42	286	39	0	77	3750
Пропагулы	92	20	66	294	54	0	84	3755
Не идентифицированные круглые черные клетки диаметром 4–14 мкм	42	33	50	33	44	308	35	44

обнаружены 3 мая 2006 г. в пробе со ст. 1. Последний просмотр проб произведен 31 мая 2006 г. Результаты инкубирования приведены в табл. 2.

Прямое микроскопирование образцов грунта выявило одноклеточные водоросли разной степени сохранности: створки диатомовых, цисты динофитовых, панцири и отдельные пластинки кокколитофорид. В некоторых створках и цистах просматривались остатки хлоропластов. Наибольшие количества ( $10^3$  экз./г) цист динофитовых в грунте обнаружены на ст. 3 (104) и ст. 5 (96), наименьшие — на ст. 6 (10) и ст. 7 (30). Наибольшие количества створок диатомовых ( $10^3$  экз./г) в грунте обнаружены на ст. 8 (7,4), наименьшее — на ст. 5 и 6 (2). В некоторых створках отмечены остатки хлоропластов.

Для проращивания спор и цист образцы грунта инкубировались в модифицированной питательной среде, приготовленной на основе GMP [15]. Произведено четыре последовательных посева: 22 февраля, 14 марта, 14 апреля и 29 мая 2006 г. Через 7–12 дней инкубации в пробах со ст. 3, 6 и 8 была выявлена проросшая диатомовая водоросль *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve 1873 (табл. 3). Других видов водорослей не обнаружено.

Таблица 2. Результаты выращивания высших грибов из образцов поверхностного грунта

Таксон	Номер станции							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Отдел Ascomycota								
<i>Arenariomyces trifurcatus</i>	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>Corollospora maritima</i>	+	—	—	—	—	—	—	—
Формальная группа Anamorphic Fungi (Mitosporic, Deuteromycotina, Deuteromycetes или Fungi Imperfecti)								
<i>Aspergillus niger</i>	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>Alternaria alternata</i>	+	—	—	—	—	+	—	—
<i>A. consortiale</i>	—	—	—	—	—	+	—	—
<i>A. radicina</i>	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>A. tenuissima</i>	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>Humicola</i> sp.	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>Penicillium citrinum</i>	+	—	—	—	—	+	—	—
<i>Penicillium</i> sp. 1	—	—	+	—	—	—	—	—
<i>Stachybothrys chartarum</i>	—	—	+	—	—	—	—	—
Fungi g. sp. 1	+	—	+	—	—	—	—	+
Fungi g. sp. 2	—	—	—	—	—	—	+	—
Стерильный мицелий	—	+	—	—	—	—	—	—

Примечание. “+” — результат положительный; “—” — результат отрицательный.

Таблица 3. Результаты инкубирования микрофитов из образцов поверхностного грунта

Номер станции	Дата посева			
	22.02.2006	14.03.2006	14.04.2006	29.05.2006
1	—	—	—	—
2	—	—	—	—
3	+	+	+	+
4	—	—	—	—
5	Нет посева	—	—	—
6	Нет посева	—	+	—
7	Нет посева	—	—	—
8	Нет посева	+	+	+

Примечание. “+” — результат положительный; “—” — результат отрицательный.

В пробе со ст. 3 в 0,05 мл разбавленного грунта насчитано 1292 выросшие клетки, образующие, как это свойственно данному виду, цепочки различной длины. В пробе со ст. 7 найдены цепочки из двух, пяти и шести клеток. В пробе со ст. 8 обнаружены цепочки-колонии из 30 клеток, а также клетки, находившиеся во время микроскопирования на стадии деления. Характерно, что все клетки *S. costatum*, выросшие в пробах, отличались небольшими размерами, а именно высотой 4 мкм и диаметром 4 мкм, в то время как в пробах фитопланктона из поверхности пелагиали Черного моря встречаются клетки высотой 4–21 мкм и диаметром 4–13 мкм. Таким образом, все выращенные клетки по своим размерам имели минимальные размеры, известные для этого вида. В литературе имеются указания на высокую степень эврибионтности вида *S. costatum*.

Пигменты определялись спектрофотометрическим методом в экстракте ацетона, а их количество рассчитывалось как сумма хлорофилла и феопигментов на 1 г сырого грунта.

Присутствие фотосинтетических пигментов в грунтах можно объяснить их наличием в осевших на дно клетках фитопланктона из верхних слоев пелагиали.

Фрагменты двух зоологических объектов удалось идентифицировать. Это щетинковидные выросты периостракума двустворчатого моллюска фазеолины *Modiolus phaseolinus* — вида-эдификатора самого глубоководного донного биоценоза Черного моря. Другим объектом оказалось зимующее яйцо нейстонного рачка *Pontella mediterranea*. Яйцо обнаружено в единственном экземпляре и было деформировано, но его размеры (140 мкм) и наличие характерных шипиков на оболочке не оставляют сомнений в правильности определения объекта.

Анализируя полученные результаты, констатируем, прежде всего, что и в изученном нами районе батииали Черного моря не зарегистрированы живые грибы-эукариоты: как растения-оксобионты, так и животные. Наряду с этим нами найдены и пророщены споры высших грибов и цисты диатомовых.

Естественно возникает вопрос, нельзя ли предположить, что в данном случае имел место занос орудиями сбора в батииаль донных и пелагических организмов из верхних горизонтов моря в процессе отбора проб грунта? Поскольку, в принципе, это не исключается, были приняты все поддающиеся управлению меры в наших условиях для минимизации подобного риска при отборе и лабораторной обработке проб. Учитывалось и то, что, проходя через 800- и 2100-метровую толщу воды, трубка очищалась от возможных адсорбированных частиц в аэробной зоне. Косвенным подтверждением чистоты эксперимента может служить, по-нашему мнению, то обстоятельство, что в образцах грунта батииали Черного моря живыми оказались лишь немногие виды гидробионтов из аэробной зоны. Например, из более чем 1000 видов одноклеточных планктонных и бентических водорослей лишь один вид, *Skeletonema costatum*, проявил способность к дальнейшему росту и развитию. Из почти 500 видов известных науке высших грибов в мировом океане лишь споры 15 видов оказались жизнеспособными.

Многое из жизни батииали Черного моря продолжает оставаться неясным и нужны дальнейшие научные исследования. Неизвестно, например, существуют ли в природе механизмы возвращения организмов, захороненных в донных отложениях батииали в аэробную зону моря. Может быть, такое возможно в небольшой степени под влиянием выделений метана (сипов) или грязевых вулканов, которые находятся в сероводородной зоне Черного моря. Так, ст. 1 и 2 расположены в районе грязевого вулкана “Водяницкий”. Эти и другие гипотезы, которые порождают впервые полученные нами факты, можно проверить, лишь продолжив комплексное изучение пелоконтура сероводородной батииали Черного моря при

совершенствовании методов отбора и предотвращения самой возможности биологического загрязнения проб.

Что касается источников и путей попадания организмов и их покоящихся стадий в самые глубокие области Черного моря, то они представляются очевидными. Это постоянный так называемый дождь трупов из верхних слоев воды, речные, ливневые и талые воды, выпуск неочищенных стоков населенных пунктов, аграрных и промышленных предприятий (например, глубоководный выпуск у Южного Крыма), наконец, атмосферные выпадения — споры легко переносятся воздушными потоками и выпадают, в том числе, на морскую поверхность.

Таким образом, нами впервые выращены культуры аэробных видов грибов и диатомовых водорослей из спор, полученных из донных отложений анаэробной сероводородной батииали Черного моря с глубин от 809 до 2104 м. Кроме того, в процессе наших исследований на указанных станциях и в глубинах не отмечены живые эукариоты в бентали — бескислородной и токсичной для них зоне Черного моря.

1. *Зернов С. А.* Общая гидробиология. — Москва; Ленинград: Биомедгиз, 1934. — 503 с.
2. *Константинов А. С.* Общая гидробиология. — Москва: Высш. шк., 1986. — 472 с.
3. *Географічна енциклопедія України.* — Київ: Українська енцикл. ім. М. П. Бажана, 1993. — Т. 3. — 480 с.
4. *Băcescu M. C., Müller G. I., Gomoiu M.-T.* Cercetări de ecologie bentală în Marea Neagră. Analiza cantitativă, calitativă și comparată a faunei bentală pontice. *Ecologie Marină.* — București: Editura Acad. Rep. Soc. România, 1971. — Vol. 4. — 357 p.
5. *Groves D. G., Hunt L. M.* Ocean World Encyclopedia. — New York: McGraw-Hill, 1980. — 443 p.
6. *Sorokin Y. I.* The Black Sea. Ecology and Oceanology. — Leiden: Backhyns Publishers, 2002. — 875 p.
7. *Jonsson K. I.* Causes and consequences of excess resistance in cryptobiotic metazoans // *Physiol. and Biochem. Zool.* — 2003. — **76(4)**. — P. 429–435.
8. *Lewis J., Haris A., Jones K., Edmonds K.* Long-term survival of marine planktonic diatoms and dinoflagellates in stored sediment samples // *J. Plankton Res.* — 1999. — **21**. — P. 343–354.
9. *Marcus N. H., Lutz R., Burnett W., Cable P.* Age, viability, and vertical distribution of zooplankton resting eggs from an anoxic basin. Evidence of an egg bank // *Limnol. and Oceanogr.* — 1994. — **39(1)**. — P. 154–158.
10. *Вернадский В. И.* Химическое строение биосферы Земли и ее окружения. — Москва: Наука, 1965. — 374 с.
11. *Зайцев Ю. П.* Контурные сообщества морей и океанов // Фауна и гидробиология шельфовых зон Тихого океана: Материалы XIV Тихоокеан. науч. конгр. (Хабаровск, 1979). *Мор. биология.* — Владивосток, 1982. — Вып. 4. — С. 51–54.
12. *Zaitsev Yu. P.* Contourbionts in Ocean Monitoring // *Environmental Monitoring and Assessment.* — Dordrecht: D. Reidel, 1986. — Vol. 7. — P. 31–38.
13. *Поликарпов Г. Г., Зайцев Ю. П.* Горизонты и стратегия поиска в морской биологии. — Киев: Наук. думка, 1969. — 31 с.
14. *Зайцев Ю. П., Поликарпов Г. Г.* Экологические процессы в критических зонах Черного моря (синтез результатов двух направлений исследований с середины XX до начала XXI веков) // *Мор. экол. журн.* — 2002. — **1**, вып. 1. — С. 33–55.
15. *Loeblich A. R. III.* A seawater medium for dinoflagellates and the nutrition of *Cachonina niei* // *J. Phycol.* — 1975. — **11**. — P. 80–85.

*Институт биологии южных морей  
им. А. О. Ковалевского НАН Украины,  
Севастополь  
Одесский филиал Института биологии  
южных морей им. А. О. Ковалевского  
НАН Украины*

*Поступило в редакцию 31.01.2007*