

УДК 551.35:579 (262.5)

АНАЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ ПЕРИФИТОНА БУХТЫ АРТИЛЛЕРИЙСКАЯ (СЕВАСТОПОЛЬ, ЧЕРНОЕ МОРЕ)

Бурдиян Н. В.

Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского, Севастополь, burdiyan@mail.ru

Получены данные по численности и особенности распределения сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий в перифитоне причальных стенок бухты Артиллерийская (Севастополь, Черное море). Установлено, что исследуемые группы бактерий распространены повсеместно. Колебания численности сульфатредуцирующих бактерий составляли от 1 до $4,5 \times 10^4$ кл./г, тионовых – от 750 до $4,5 \times 10^4$ кл./г, денитрифицирующих – от 25 до $2,5 \times 10^5$ кл./г. Определена способность накопительных культур сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий, изолированных из перифитона, использовать углеводороды нефти в качестве единственного источника углерода и энергии.

Ключевые слова: анаэробные бактерии, перифитон, нефть, Артиллерийская бухта, Черное море.

ВВЕДЕНИЕ

Бактериальный перифитон является мощным агентом трансформации и аккумуляции практически всех видов загрязняющих веществ. Одним из критериев оценки экологического состояния морской береговой зоны Черного моря служит изучение анаэробных бактерий перифитона, как показателей преобразования антропогенного загрязнения в условиях дефицита кислорода. Наибольшее показательное значение имеет бактериальный перифитон, развивающийся на гидротехнических сооружениях в прибрежных зонах с различной степенью антропогенной и рекреационной нагрузки.

В этой связи целью работы было изучение динамики численности и способности к деструкции нефтяных углеводородов сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий перифитона, развивающегося на причальных стенках бухты Артиллерийской, подверженной сильной антропогенной нагрузке.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили пробы перифитона, отобранные в бухте Артиллерийской (рис. 1) со стенок паромного причала (ст. 1) и причала для маломерных судов, расположенного на территории дельфинария (ст. 2). Следует отметить, что паромный причал находится в районе вершины бухты и функционирует круглогодично, в то время как причал дельфинария испытывает основную нагрузку в курортный сезон.



Рис. 1. Схема станций отбора проб

Отбор материала для микробиологических анализов производили ежеквартально, начиная с октября 2009 г. Всего на каждой станции отобрано по 15 проб обрастаний. Перифитон с причальных стенок отбирали скребком и стерильно помещали в склянки с притертыми пробками. В каждой пробе определяли численность сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих групп бактерий. Однократно на обеих станциях были получены накопительные культуры, а на ст. 2 выделены штаммы тионовых и денитрифицирующих бактерий. Морфологические, культуральные и физиолого-биохимические свойства которых изучали согласно руководствам [2, 6].

Способность и интенсивность роста выделенных бактериальных культур на различных источниках углерода определяли посевом полученных чистых и накопительных культур бактерий на среду Диановой–Ворошиловой с последующим добавлением источников углерода (нефть, дизельное топливо, мазут) [3].

Количество микроорганизмов в пробе определяли методом предельных разведений [6] с последующим посевом 1 мл из каждого разведения в соответствующие питательные среды. При приготовлении сред учитывали соленость морской воды. Численность сульфатредукторов определяли на среде Постгейта [7]. В качестве восстановителя в среду добавляли 3 % раствор сернистого натрия. Количество денитрификаторов учитывали на среде Гильтая [6], тионовых бактерий – на среде Сорокина [9]. Наиболее вероятное число микроорганизмов в единице объема рассчитывали по таблице Мак-Креди, основанной на методе вариационной статистики [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Тионовые бактерии выделены в 100 % проб. В перифитоне, развивающемся на стенках паромного причала (ст. 1) численность тионовых бактерий изменялась от $1,5 \times 10^3$ до $9,5 \times 10^4$ кл./г, причем в 80 % проб количество бактерий исчислялось десятками тысяч (рис. 2). Минимальные показатели (10^3) на ст. 1 были выделены в апреле 2010 и 2011 гг., январе 2013 г. Количественные показатели тионовых бактерий на ст. 2 (причал дельфинария) варьировали от 750 до $4,5 \times 10^4$ кл./г, однако в большинстве проб число тионовых бактерий находилось в пределах третьей степени. Максимальная численность ($4,5 \times 10^4$ кл./г) на ст. 2 определена в январе 2011 и июле 2013 гг. Минимум (750 кл./г) выявлен в апреле 2010 г.

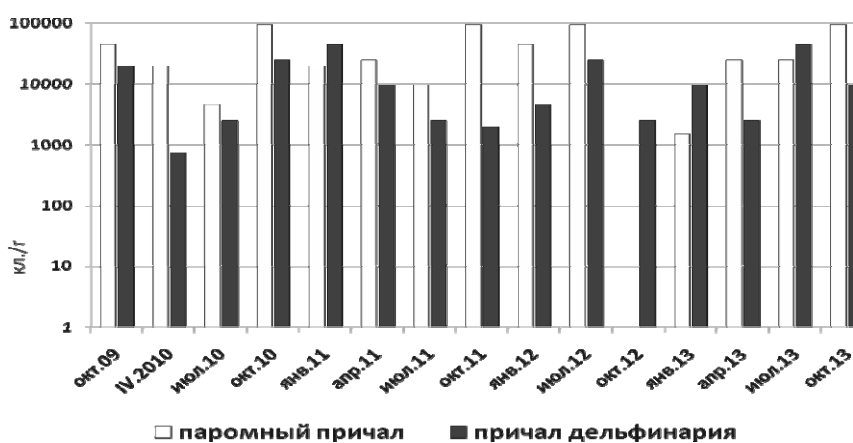


Рис. 2. Численность тионовых бактерий перифитона на стенках паромного причала (ст. 1) и дельфинария (ст. 2)

Сульфатредуцирующие бактерии выделены в 99 % проб, численность бактерий на обеих станциях изменялась от 1 до $4,5 \times 10^4$ кл./г (рис. 3). В 80 % проб количественные показатели сульфатредукторов не превышали 950 клеток в 1 г обрастаний. На ст. 1 максимум ($4,5 \times 10^4$ кл./г) выявлен в январе 2004 г, высокая численность (от $2,5 \times 10^3$ до $9,5 \times 10^3$ кл./г) определена в октябре 2011, апреле и июле 2013 гг. В перифитоне ст. 2 (причал дельфинария) наибольшая численность

исследуемых бактерий (от $2,5 \times 10^3$ до $9,5 \times 10^3$ кл./г) получена в июльских пробах, что, по всей видимости, связано с увеличением эксплуатации причала в курортный сезон. В остальные месяцы число сульфатредукторов на этой станции изменялось от 0,4 до 950 кл./г.

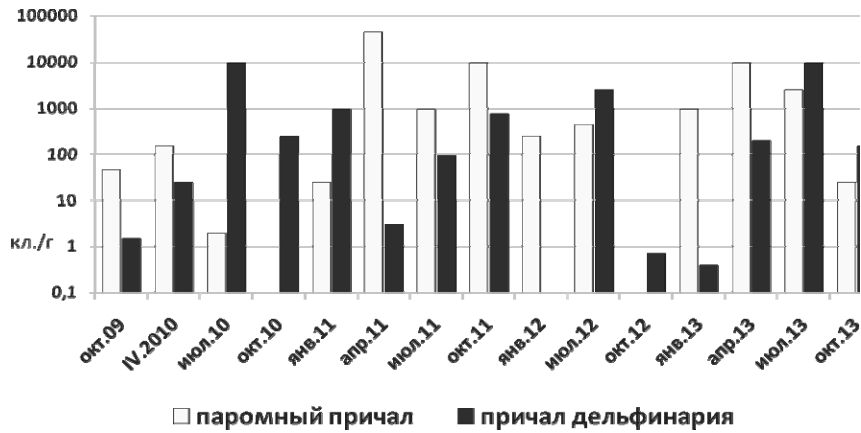


Рис. 3. Численность сульфатредуцирующих бактерий перифитона на стенках паромного причала (ст. 1) и дельфинария (ст. 2)

Денитрифицирующие бактерии выделены в 100 % проб. На ст. 1 число денитрификаторов изменялось в широких пределах: от 25 до $2,5 \times 10^5$ кл./г, в 60 % проб показатели численности не превышали третьего порядка (рис. 4). Минимум бактерий на ст. 1 получен в апреле 2011 г, максимум – в июле 2011 г. Высокие показатели численности денитрифицирующих бактерий характерны для обрастания причала дельфинария (ст. 2), где число бактерий варьировало от 450 до $4,5 \times 10^4$ кл./г. В 99 % проб колебания численности денитрификаторов на ст. 2 составляли от $2,5 \times 10^3$ до $4,5 \times 10^4$ кл./г. Наибольшее количество данных бактерий определено в январе 2011 и октябре 2013 гг.

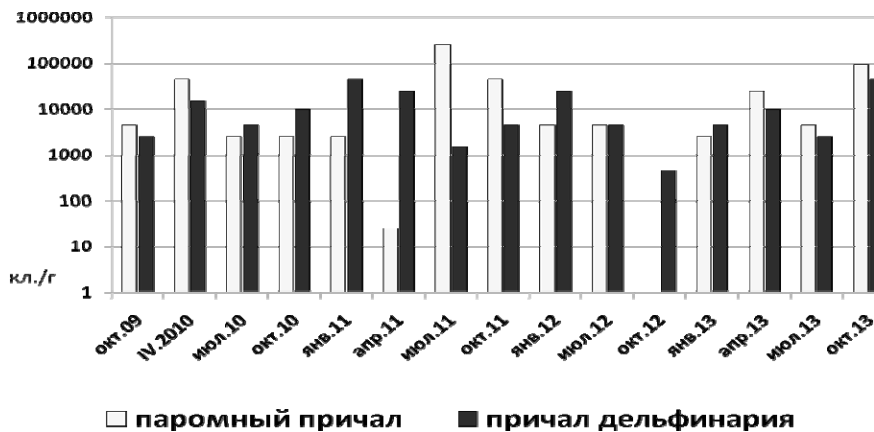


Рис. 4. Численность денитрифицирующих бактерий перифитона на стенках паромного причала (ст. 1) и дельфинария (ст. 2)

В целом численность перифитонных анаэробных бактерий на ст. 1, расположенной в вершине б. Артиллерийской, превосходит таковую на ст. 2. По [4] вершина б. Артиллерийской относится к наиболее загрязненным участкам акватории Севастополя. Ранее наши исследования [1, 8] показали, что количественный состав анаэробных бактерий в прибрежных наносах и донных осадках адекватно отражает уровень загрязнения органическими веществами аллохтонного и автохтонного происхождения. Следует отметить относительно равномерную динамику

численности тионовых и денитрифицирующих бактерий – факультативных анаэробов, что может объясняться высокой сорбционной емкостью перифитона [5].

Для сравнения способности выделенной микрофлоры к росту на различных источниках углерода был проведен посев накопительных культур бактерий на среду Диановой-Ворошиловой с добавлением нефти, дизельного топлива (ДТ) и мазута. Из результатов определений видно (табл. 1), что все микроорганизмы использовали углеводороды нефти в качестве единственного источника углерода и энергии.

Таблица 1

Рост накопительных культур бактерий с различными источниками углерода

Станции отбора проб	Культуры бактерий								
	Сульфатредуцирующие			Тионовые			Денитрификаторы		
	Источник углерода								
	Нефть	ДТ	Мазут	Нефть	ДТ	Мазут	Нефть	ДТ	Мазут
Паромный причал (ст. 1)	+	+	+	+++	++	+++	+++	+++	+++
Причал дельфинария (ст. 2)	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Примечание к таблице. «+++» – обильный рост; «++» – умеренный рост; «+» – скудный рост; «+*» – наличие роста.

Из пробы, отобранной в октябре 2009 г. на ст. 2, изолировано по два штамма тионовых и денитрифицирующих бактерий. Все выделенные штаммы активно использовали в качестве единственного источника углерода и энергии нефть и дизельное топливо.

ВЫВОДЫ

1. В бухте Артиллерийской (г. Севастополь), подверженной сильной антропогенной нагрузке, колебания численности сульфатредуцирующих бактерий составляли от 1 до $4,5 \times 10^4$ кл./г, тионовых – от 750 до $4,5 \times 10^4$ кл./г, денитрифицирующих – от 25 до $2,5 \times 10^5$ кл./г.

2. Высокая численность исследуемых бактерий характерна для перифитона стенки паромного причала, расположенного в вершине бухты и функционирующего круглогодично.

3. Накопительные культуры сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих групп бактерий, а также штаммы тионовых и денитрифицирующих бактерий, изолированные из перифитона способны использовать углеводороды нефти и ее производных в качестве единственного источника углерода и энергии, что отражает участие этих групп микроорганизмов в биодеградациии нефтяных углеводородов в прибрежной зоне.

Список литературы

1. Бурдиян Н. В. Анаэробная микрофлора донных осадков Севастопольских бухт / Н. В. Бурдиян // Экология моря. – 2004. – Вып. 66. – С. 22–24.
2. Каравайко Г. И. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд / Г. И. Каравайко, С. И. Кузнецов, А. И. Голомзик. – М: Наука, 1972. – 248 с.
3. Микромир в санитарно-биологических исследованиях / [ред. О. Г. Миронов]. – Севастополь: Манускрипт, 1995. – 95 с.
4. Миронов О. Г. Мониторинг экологического состояния бухты Артиллерийская (Севастополь, Черное море) / О. Г. Миронов, С. В. Алемов // Морск. экол. журн. – 2012. – Т. XI, № 1. – С. 41–52.
5. Миронова Т. О. Динамика органического вещества в перифитоне гидротехнических сооружений / Т. О. Миронова, И. П. Муравьева // Экология моря. – 2009. – Вып. 77. – С. 88–90.
6. Практикум по микробиологии / [ред. А. И. Нетрусов]. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.
7. Романенко В. И. Экология микроорганизмов пресных водоемов / В. И. Романенко, С. И. Кузнецов – Л.: Наука, 1974. – 194 с.
8. Санитарно-биологические исследования в прибрежной акватории региона Севастополя / [Под общ. ред. О. Г. Миронова]. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2009. – 192 с.
9. Сорокин Ю. И. Микрофлора грунтов Черного моря / Ю. И. Сорокин // Микробиология. – 1962. – Т. 31, вып. 5. – С. 899–903.

Бурдіян Н. В. Анаеробні бактерії перифітона бухти Артилерійської (Севастополь, Чорне море) // Екосистеми, їх оптимізація та охорона. Сімферополь: ТНУ, 2014. Вип. 11. С. 174–178.

Отримані дані про чисельність і особливості розподілу сульфатредуючих, тіонових та денітрифікуючих бактерій в перифітоне причальних стінок бухти Артилерійської (Севастополь, Чорне море). Встановлено, що досліджувані групи бактерій поширені повсюдно. В прибережних наносах коливання чисельності сульфатредуючих бактерій становила від 1 до 4.5×10^4 кл./г; тіонових – від 750 до 4.5×10^4 кл./г; денітрифікуючих – від 25 до 2.5×10^5 кл./г. Визначена здатність накопичувальних культур сульфатредуючих, тіонових та денітрифікуючих бактерій, ізольованих з перифітона, використовувати вуглеводні нафти як єдине джерело вуглецю та енергії.

Ключові слова: анаеробні бактерії, перифітон, нафта, Артилерійська бухта, Чорне море.

Burdiyan N. V. Anaerobic bacteria in the periphyton of Artilleriyskaya Bay (Sevastopol, the Black Sea) // Optimization and Protection of Ecosystems. Simferopol: TNU, 2014. Iss. 11. P. 174–178.

The abundance and distribution of sulfate-reducing, thiobacteria and denitrifying bacteria inhabiting in the periphyton of mooring walls of Artilleriyskaya Bay (Sevastopol, the Black Sea) were investigated. The general presence of the examined bacterial groups has been proven. In the coastal sediments the abundance of sulfate-reducing, thiobacteria and denitrifying bacteria varied from 1 to 4.5×10^4 , 750 to 4.5×10^4 and 25 to 2.5×10^5 cell/g, respectively. The capacity to utilize oil hydrocarbons as the only carbon and energy supply was tested in continuous cultures of the sulfate-reducing, thiobacteria and denitrifying bacteria isolated from the fouling.

Key words: anaerobic bacteria, periphyton, oil, Artilleriyskaya Bay, the Black Sea).

Поступила в редакцію 12.02.2014 г.