

УДК 579:574.587(262.5)

ПОТРЕБЛЕНИЕ КИСЛОРОДА В ЗОНЕ КОНТАКТА ВОДНЫХ МАСС ВЕРХНЕЙ ГРАНИЦЫ СЕРОВОДОРОДНОГО СЛОЯ С ДОННЫМИ ОСАДКАМИ (ЧЁРНОЕ МОРЕ)

Чекалов В. П.

Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН, Севастополь, valch@mail.ru

Рассмотрена респираторная активность и соотношение численности основных по типу энергетического обмена групп бактерий в донных отложениях пояса перехода от окислительных условий к восстановительным. Зависимость аэробной микрофлоры от температурного фактора оказалась выше, чем у анаэробных форм. Приведены расчетные значения содержания, скорости окисления и продуцирования восстановленных соединений (H_2S).

Ключевые слова: донные отложения, потребление кислорода, бактериобентос, Чёрное море.

ВВЕДЕНИЕ

Прилегающие к городу Геленджик акватории являются достаточно изученными. В большинстве своем это относится к водной толще, тогда как сведения о функционировании бентосных бактериальных сообществ в зоне контакта донных отложений с верхней границей сероводородного слоя, весьма ограничены. Ранее была дана количественная оценка некоторых групп бактериобентоса (Сорокин, 1982). Приведены также сведения о численности гетеротрофов в грунтах северо-восточной части Черного моря в пределах $4,5 \cdot 10^2$ – $9,5 \cdot 10^4$ кл/г (Бурдиян, 2014). В Голубой бухте при максимальном содержании кислорода в придонной воде порядка 622–635 мкг-ат/л донные отложения, за исключением самого верхнего слоя, в основном восстановленные и содержат сульфиды до 0,478 %. При этом, различная литология верхнего слоя осадков, по всей видимости, определяет широкий, согласно литературным данным, диапазон колебания величин кислородного потока (Богдановская, 1993; Розанов, Вершинин, Егоров, 2010). В мелководных морских бассейнах скорость диффузии сероводорода в придонную воду может достигать 0,2–0,4 г S/м² поверхности дна или 2–4 мг H_2S /л за сутки (Sorokin, 1996).

Целью настоящей работы являлось изучение функциональной активности основных по типу энергетического обмена групп бактерий в поясе редокс нестабильности, в пределах которого наблюдается естественное колебание линии соприкосновения верхней границы сероводородного слоя непосредственно с донными отложениями.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалы для данной работы были собраны в июне 2015 года в ходе прибрежной съёмки на траверсе Голубой бухты с борта НИС «Ашамба». Предварительно на основании анализа данных многолетних наблюдений был установлен пояс естественной миграции линии соприкосновения верхней границы сероводородного слоя с донной поверхностью. Отбор образцов производили трубчатым пробоотборником непосредственно в самом поясе, что соответствовало глубине 186 м, а также в аэробной (115 м) и анаэробной (244 м) зонах. Для исследования брали поверхностный двухсантиметровый слой донных осадков.

Влажность и содержание органического вещества определяли гравиметрическим методом соответственно после сушки при +105 °С и прокаливании навесок при + 500 °С. Измерение pH и Eh осуществляли портативным иономером Sention 1 (Hach, США).

Скорость суммарного потребления кислорода (СПК) измеряли с помощью респирометрической камеры объёмом 60 мл, герметично соединённой с кислородным датчиком LDO-оксиметра HQ40d (Hach, США). Ёмкость заполняли морской водой, вносили 0,2 см³ исследуемого ила и плотно закрывали специальной пробкой с газоотводной трубкой.

Материал распределяли на площади 20 см² слоем толщиной примерно 0,01 см. Измерение проводили либо при оптимальной температуре (25 °С), либо при близкой к естественной (8–9 °С) в автоматическом режиме ежечасно в течение 12–20 часов.

Определение исходного значения скорости кислородной нейтрализации восстановленных соединений (КНВС) проводили аналогичным образом, предварительно подавив жизнедеятельность бактерий и создав благоприятные условия для окисления восстановленных веществ. Учитывая, что снижение рН смещает соотношение сернистых соединений в воде (S²⁻, HS⁻, H₂S) в сторону преобладания наиболее активно окисляемого сероводорода, водородный показатель в ёмкости доводили 0,1N серной кислотой до 5. Это также способствовало подавлению жизнедеятельности микрофлоры, наряду с внесением в измерительную ёмкость стрептомицина из расчета конечной концентрации 0.1 мг/мл и последующим термостатированием ёмкости при 8–10 °С.

Скорость аэробного поглощения кислорода (АПК) при реальной (9 °С) и оптимальной (25°С) температурах получали путём вычитания из соответствующих уровней суммарного поглощения (СПК9 и СПК25) значения КНВС.

Все измерения потребления кислорода проводили в условиях его достаточной исходной концентрации в измерительной ёмкости, порядка 6–8 мг/л. В связи с этим, полученные результаты следует рассматривать как потенциальные, особенно для кислород-дефицитных зон.

Для определения скорости обогащения среды восстановленными соединениями (ВС), часть образцов сохранялась в условиях эксперимента в течение 30–60 суток с последующим измерением потребления кислорода. Разность полученного значения и исходного за определённый интервал времени, соответствующий стабилизации показаний, пересчитывали на количество окисленного сероводорода, учитывая, что в водных растворах сероводород окисляется, как правило, до серы и воды (Некрасов, 1973).

Для учёта численности аэробных (Аэ), анаэробных (АнАэ) и сульфатредуцирующих гетеротрофных бактерий (СРБ) использовали модифицированную (по Горбенко, 1961) среду Вильсона-Блера. Ранее нами была показана возможность применения этой среды для учёта аэробной гетеротрофной микрофлоры в донных осадках (Чекалов, 2012).

Анаэробные бактерии выявляли ранее предложенным способом с использованием двух пробирок разного размера: посевной и вытесняющей (Чекалов, 2014). Посев разведений производили в расплавленную и быстро остуженную до 40–45 °С среду, после чего в неё погружали вытесняющую пробирку. В оставшееся пространство между пробирками вносили несколько капель стерильного вазелинового масла, посевная ёмкость закрывалась ватно-марлевой пробкой, и в таком виде инкубировалась до регистрации результатов. При этом, темноокрашенные колонии учитывались как СРБ, а светлые, как анаэробные гетеротрофные бактерии.

Половину чашек (пробирок) с посевами термостатировали при оптимальной для развития бактерий температуре (20–25 °С), а другую – при условиях, соответствующих *in vivo*. Численность визуально различимых колоний, впервые выявленных в посевах «холодной» инкубации, и в посевах, растущих при оптимальной температуре за тот же временной интервал, принимали за активные формы. Результаты повторного подсчёта после стабилизации численности через 10–12 суток считали потенциальным максимумом.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В поясе редокс неустойчивости грунта отличались пониженной плотностью 1,22, против 1,46 выше и 1,54 г/см³ ниже расположенных зон. Влажность, наоборот, была максимальной, что обусловило здесь повышенное содержание органических веществ в пересчёте на сухой субстрат, в то время как во влажных осадках полученные значения практически не различались (табл. 1). Донные отложения даже в аэробной зоне имели ярко выраженный восстановительный характер. Разнонаправленность пространственных изменений рН в придонных слоях воды и грунтах, возможно, связана с соотношением

процессов образования и окисления сероводорода. Являясь слабой, но достаточно подвижной кислотой, он диффундирует в придонные слои воды, обуславливая снижение pH при переходе в бескислородную зону, тогда как его окисление в грунтах аэробного участка может приводить к подкислению за счёт образования и накопления в их толще сульфатов. Температура придонных слоёв воды в зоне исследований очевидно редко превышает 9 °С. Тем не менее потенциальный максимум оксифильных бактерий, растущих при более тёплом режиме (25 °С) был в 2–4 раза выше. Численность же активных форм превышала в аэробной зоне в 25, а в анаэробической – более чем в 75 раз.

Таблица 1

Некоторые физико-химические параметры воды и донных отложений вблизи Геленджика

Зона	Т, С°	pH _{вода} / pH _{грунт}	Eh, мВ	Влажность, %	Органическое в-во, мг/г	
					Влажный грунт	Сухой грунт
Аэробная (115м)	8,30	8,22 / 6,98	-212	56,2	30	79
Редокс колебаний (186м)	8,67	8,08 / 7,10	-252	64,4	31	88
Анаэробная (244м)	8,70	8,6 / 7,17	-294	44,5	32	58

При оптимальной температуре культивирования посевов (25 °С) численность и потенциальной, и активной аэробной микрофлоры достигала максимальных значений в поясе редокс неустойчивости (рис. 1).

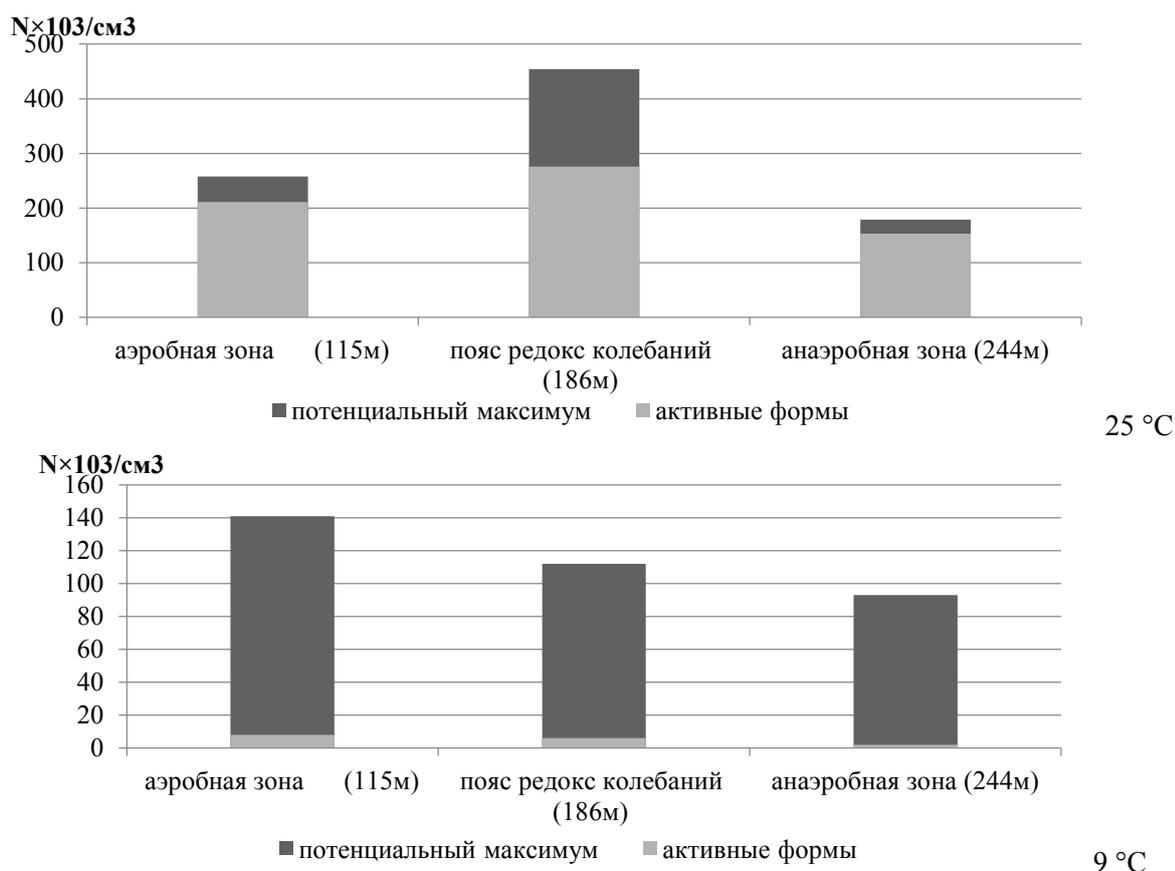


Рис. 1. Соотношение максимальной численности и активной составляющей аэробной микрофлоры донных отложений при оптимальной (25 °С) и реальной (9 °С) температуре

Однако доля активных форм здесь оказалась ниже (61%), чем на прилегающих кислородных (82 %) и анаэробных (85 %) участках. В условиях же реальных температур она колебалась в пределах 2–6 %, что обусловлено уменьшением численности потенциальной в 2–4, а активной микрофлоры в 25–70 раз при общей тенденции к снижению этих показателей от кислородной к сероводородной зоне.

Число анаэробных бактерий в поясе редокс неустойчивости незначительно превышало значения полученные для окисленных осадков (рис. 2).

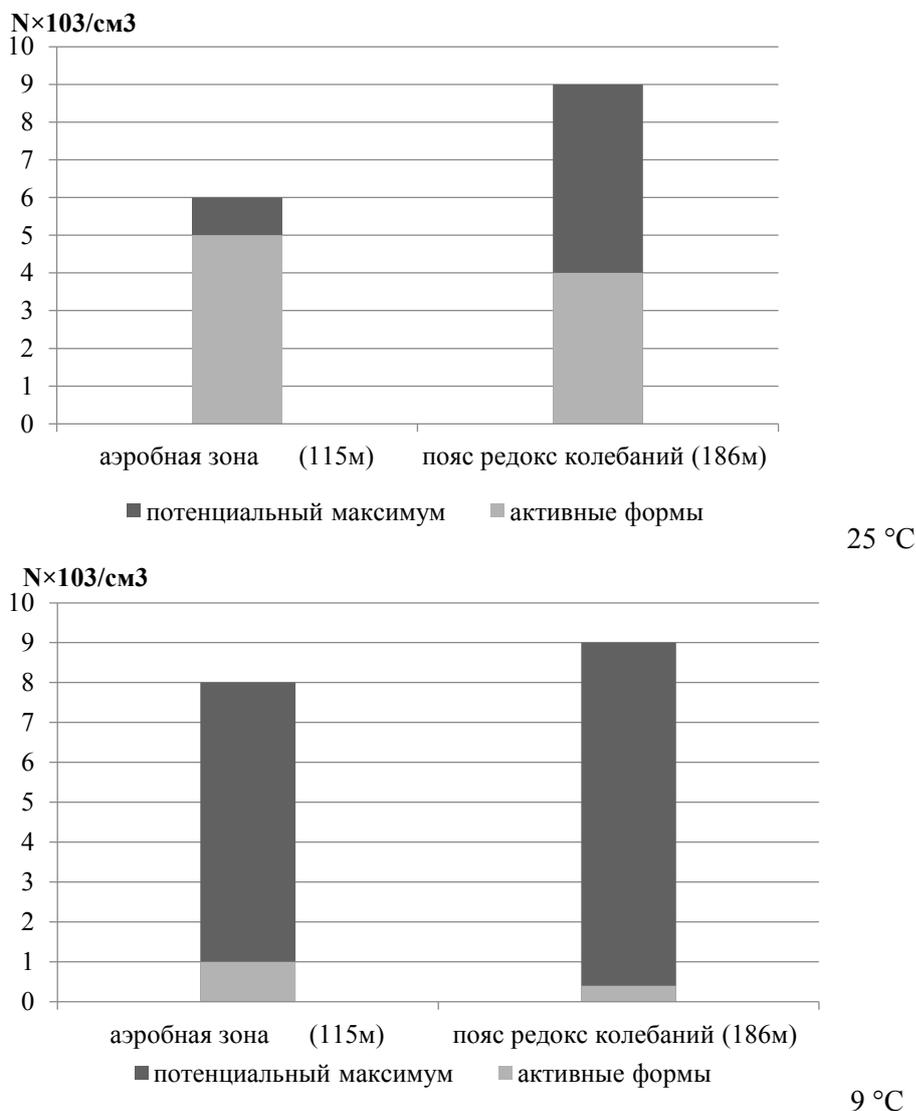


Рис. 2. Соотношение максимальной численности и активной составляющей анаэробной микрофлоры донных отложений при оптимальной (25 °С) и реальной (9 °С) температуре

При этом их потенциальные максимумы независимо от условий культивирования совпадали как в грунтах аэробной зоны, так и пояса Eh-неустойчивости, а сокращение численности активных представителей было не столь значительным. Таким образом, группа анаэробных бактерий оказалась менее чувствительной к температурному фактору. В поясе редокс неустойчивости были выявлены сульфат редуторы в количестве 1×10^2 КОЕ/см³ влажного грунта.

Здесь же наблюдается и пик кислородной нейтрализации восстановленных соединений (рис. 3).

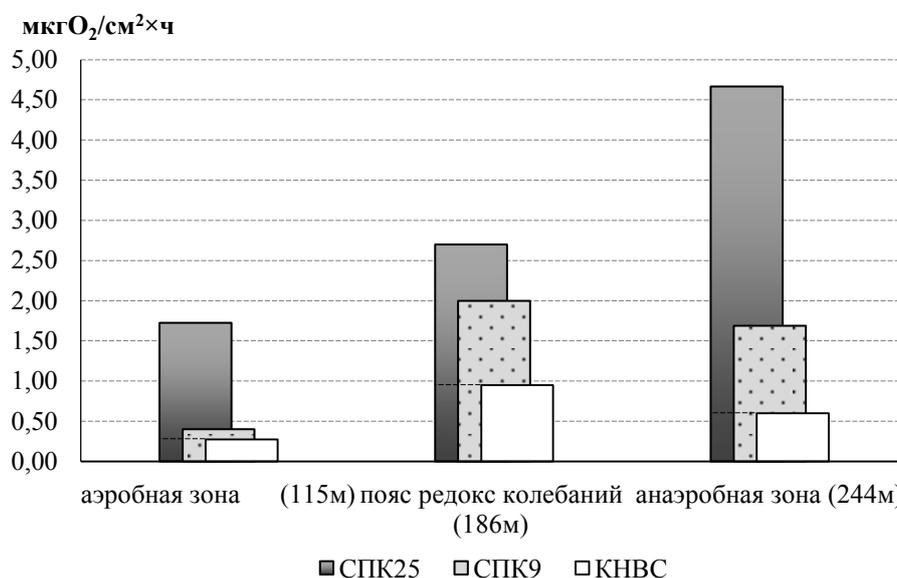


Рис. 3. Скорость суммарного поглощения кислорода и кислородная нейтрализация восстановленных соединений в донных отложениях при оптимальной (25 °C) и реальной (9 °C) температуре

Суммарное же поглощение кислорода при переходе от аэробной зоны к анаэробной в условиях температурного оптимума возрастает с 2,71 до 7,33 мкгO₂/см³×ч. При реальных температурах также наблюдается рост с 0,63 до максимума в поясе редокс колебаний (3,14) и незначительным снижением до 2,65 мкгO₂/см³×ч в грунтах бескислородной зоны (табл. 2).

Таблица 2
Скорость потребления кислорода (мкг/см³×ч) и расчётные значения содержания (мкг/см³), максимальной скорости окисления и продукции H₂S (мкг/см³×ч) в донных осадках вблизи города Геленджик

Зона	Кислород			Сероводород		
	АПК ₉	АПК ₂₅	КНВС	Содержание	Окисление	Продукция
Аэробная (115м)	0,20	2,28	0,43	0,57	0,46	0,65
Редокс колебаний (186м)	1,65	2,75	1,49	2,41	1,58	0,43
Анаэробная (244м)	1,71	6,38	0,94	1,71	1,00	-

Сообщалось (Богдановская, 1993), что в Голубой бухте при глубине проникновения кислорода в толщу осадков на 6,7 мм интенсивность его потребления составляла $3,65 \cdot 10^3$ мг-ат/м³×сут, т. е. 2,43 мкгO₂/см³ в час, а значение потока через единицу поверхности грунта – 21,95 мг-ат/м²×сут или соответственно 1,46 мкгO₂/см²×ч. По другим данным поток кислорода достигал более 130 мМ/м²×сут или 17 мкгO₂/см²×ч, что на порядок превышает типичные для морей значения (Розанов и др. 2010). Возможно, такие расхождения связаны с различием окислительно-восстановительных условий в местах проведения исследований. Так, в восстановленных донных отложениях при достаточной искусственной аэрации окисление накопленных продуктов анаэробного разложения может приводить к дополнительному приросту кислородного потребления. Также при этом оказалась выше, чем в грунтах кислородной зоны и скорость утилизации кислорода аэробной микрофлорой

(АПК), особенно в условиях реальных температур. Однако, этот потенциал, на который способно выйти бактериальное сообщество, в действительности не реализуется вследствие дефицита окислителя, тогда как для кислородной зоны данный фактор не является ограничивающим (Lichtschlag et al., 2015). С другой стороны, микрофлора донных отложений аэробного участка более чувствительна к понижению температуры. Таким образом, в реальных условиях величины утилизации кислорода в грунтах с различным уровнем аэрации могут оказаться близкими.

Полученные нами при пересчете КНВС значения концентрации, скоростей окисления и образования H_2S вполне согласуются с результатами исследования в 2002–2004 гг. верхнего слоя донных садков в зоне порта и городских сточных вод, где содержание лабильных сульфидов составляло 700–900 мгS/дм³ сырого ила, а суточная скорость сульфатредукции варьировала от 10 до 44 мгS/дм³ (Сорокин, 2008). По данным наших экспериментов концентрация сероводорода, как и скорость его окисления в случае поступления кислорода, оказались в 3–4 раза выше в аноксийных осадках. В то же время, в грунтах аэробной зоны отмечен более высокий темп продуцирования восстановленных соединений. Здесь, по всей видимости, кислородная нейтрализация обеспечивает почти полное удаление продуктов анаэробнобиоза, тогда как низкая аэрация в зоне редокс колебаний приводит к их накоплению и, как следствие, замедлению хемосинтетических процессов.

ВЫВОДЫ

Таким образом, в ходе естественной миграции линии соприкосновения верхней границы сероводородного слоя водных масс с донной поверхностью формируется пояс редокс неустойчивости, где наблюдается периодическая смена окислительных условий на восстановительные. Вариабельность редокс фона определяет повышенный потенциал различных по типу энергетического обмена групп бактерий. При этом анаэробная микрофлора оказалась менее чувствительной к температурному фактору, чем представители аэробной группы.

Накопление восстановленных соединений в донных осадках пояса редокс неустойчивости ограничивает скорость их образования, в то время как в аэробной зоне кислородная нейтрализация продуктов анаэробнобиоза поддерживает её на более высоком уровне.

Благодарности. Автор выражает признательность к.б.н. М. Б. Гулину за организацию экспедиции и плодотворное сотрудничество.

Список литературы

- Богдановская В. В. Количественная оценка химического обмена биогенных элементов через границу вода – осадок: автореф. дисс. ... канд. геол.-минерал. наук. – М., 1993. – 25с.
- Бурдиян Н. В. Микробиологическая характеристика донных отложений северо-восточной части Чёрного моря // Современное состояние и перспективы наращивания морского ресурсного потенциала юга России: 15–18 сентября 2014 г.: тез. докл. – пгт. Кацивели, 2014. – С. 104–105.
- Горбенко Ю. А. О наиболее благоприятном количестве «сухого питательного агара» в средах для культивирования морских гетеротрофных микроорганизмов // Микробиология. – 1961. – 30, вып. 1. – С. 168–172.
- Некрасов Б. В. Основы общей химии. – М.: Химия, 1973. – (Основы общей химии) Т. 1. – 656 с.
- Розанов А. Г. Исследование химического обмена на границе вода-дно в Голубой бухте Чёрного моря / А. Г. Розанов, А. В. Вершинин, А. В. Егоров // Водные ресурсы. 2010. – Т. 37, № 3. – С. 341–350.
- Сорокин Ю. И. Чёрное море: Природа, ресурсы / Ю. И. Сорокин. – М.: Наука, 1982. – 217 с.
- Сорокин, Ю. И. Кислотно-растворимые сульфиды в верхнем слое донных осадков северо-восточного шельфа Чёрного моря: связь с загрязнением и экологические последствия / Ю. И. Сорокин, О. Ю. Закускина // Океанология. – 2008. – Т. 48, № 2. – С. 224–231.
- Чекалов В.П. Методические аспекты учета численности бактериобентоса в условиях сезонного колебания температур // Вісник Дніпроп. Унів. Біологія. Екологія. – 2012. – 20, №7/1. – С. 101–107.
- Чекалов В. П. Простой способ культивирования и учёта численности анаэробных бактерий // Морск. экол. журн. – 2014. – Т. 13, №1. – С. 44.

Lichtsschlag A., Donis D, F. Janssen F., Jessen G. L. et al. Effects of fluctuating hypoxia on benthic oxygen consumption in the Black Sea (Crimean shelf) // *Biogeosciences*. – 2015. – Vol. 12. – P. 5075–5092.

Sorokin, Yu. I., Sorokin P. Yu., Gnes A. Structure and functioning of anthropogenically transformed Comacchio lagoon ecosystem // *Mar. Ecol Prog. Ser.* – 1996. – Vol. 133. – P. 57–71.

Chekalov V. P. Oxygen consumption in the contact zone of the water masses upper boundary of hydrogen sulfide layer with bottom sediments (the Black Sea) // *Ekosystemy*. 2016. Iss. 5 (35). P. 53–59.

The respiratory activity and the ratio of the basic groups of bacteria by types of energy exchange in the sediments of the transition zone from of oxidizing to the reduced conditions were considered. The dependence on the temperature factor of aerobic microflora was higher than that of the anaerobic bacteria. The cited calculations values of the content, the rates of oxidation and the production of reduced compounds (H₂S).

Key words: sediments, oxygen consumption, bakteriobentos, the Black Sea.

Поступила в редакцию 17.05.2016 г.