

УДК 591.1:595.3:574.52(262.5)

К вопросу о вкладе перифитонной микрофлоры в совместное потребление кислорода при измерении скорости дыхания водных животных

Чекалов В. П.

Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН
Севастополь, Россия
valch@mail.ru

В ходе измерения скорости дыхания трех представителей зообентоса: амфиподы, полихеты и моллюска была предпринята попытка вычленить уровень потребления кислорода ассоциированной с их поверхностью тела микрофлорой перифитона. Методические особенности, связанные с фиксацией убыли окислителя в замкнутых емкостях, определяют получение суммарной величины процесса. Корректировка, как правило, осуществляется лишь в отношении бактерий планктона. С целью разграничения потоков кислородного потребления были применены два подхода. В одном из них, добивались смерти животного в результате естественной асфиксии вследствие истощения кислорода с последующим, после повторного насыщения, определением его бактериальной утилизации. Во-втором наоборот, с помощью антибиотика широкого спектра действия (стрептомицина), подавляли активность микрофлоры. В результате были получены достаточно близкие соотношения. Так, в теплое время года вклады непосредственно особой гаммаруса (*Echinogammarus olivii*) и полихеты рода *Malacoceros*, измеренные по первой схеме, составляли 30–40 %. Исследование с *Mytilus galloprovincialis* проводили вторым способом параллельно при текущей температуре среды обитания (4 °C) и экспериментальной (23 °C), имитирующей летний период. В теплое время года доля гидробионта также оказалась в этом же диапазоне – 36 %, тогда как в условиях зимних температур повышалась до 66 %. Отсюда можно сделать вывод, что имеющиеся данные по интенсивности дыхания водных животных, по-видимому, несколько завышены.

Ключевые слова: дыхание гидробионтов, потребление кислорода, перифитон, Черное море

ВВЕДЕНИЕ

Использование кислорода является основной физиологической функцией живых существ, определяя тип и интенсивность метаболизма. В этой области накоплен значительный объём данных по огромному количеству представителей различных таксономических групп. Так, в монографии (Сушня, 1972) приведены обширные сведения по респираторной активности у более чем 100 видов ракообразных. Показано в частности, что скорость дыхания мидий варьирует в довольно значительных пределах: 0,095–0,638 мл O₂/час/экз, в среднем составляя 0,38 мл O₂ /час/экз (Сытник, Золотницкий, 2019). Основным методом подобных исследований является регистрация в течение определенного времени изменения содержания кислорода в замкнутых респирометрических ёмкостях. Однако, за простотой процедуры измерения, как правило, остается незамеченным вклад в этот процесс микрофлоры, тесно ассоциированной с поверхностью тела животного. При этом известно о весьма энергичной утилизации кислорода бактериями, деятельность которых способна привести к полной элиминации окислителя в водной среде.

Цель настоящей работы – изучить респираторно-трофические отношения в сообществах некоторых представителей гидробионтов и ассоциированных с ними гетеротрофных бактерий-сателлитов перифитона в Севастопольской бухте и заливе Донузлав Черного моря.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования послужили отловленные в августе в Севастопольской бухте представители гаммаруса *Echinogammarus olivii* (Milne-Edwards, 1830) размером примерно 5 мм при весе 8,2 мг и полихета рода *Malacoceros* весом 5,6 мг с длиной тела 4 мм, а также

мидии *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) длиной 30 мм, собранные в заливе Донузлав в зимнее время года (февраль).

Измерение скорости потребления кислорода проводили с помощью респирометрической камеры объёмом 60 мл, герметично соединённой с кислородным датчиком LDO–оксиметра HQ40d (Hach, США). Результаты регистрировали в автоматическом режиме с интервалом в час. Первоначально определяли его совокупное потребление всей биотической составляющей: представителем макрофауны, сопутствующей перифитонной микрофлорой и бактериопланктоном. С гаммарусами и полихетами измерение осуществляли до естественной, вследствие асфиксии, гибели животных, после чего трупы помещали в новую порцию насыщенной кислородом морской воды, с последующим определением утилизации кислорода микробным сообществом, как ассоциированным с животными, так и свободноживущими формами. Вычитание измеренной далее скорости дыхания бактериопланктона в морской воде позволило получить данные о вкладе уже непосредственно перифитонной микрофлоры.

Ранее проведенные эксперименты (Чекалов и др., 2015) показали, что более адекватные результаты, из-за индивидуальных различий порога кислородного голодания, получались с единичными экземплярами.

Несколько иная схема была использована в экспериментах с мидиями. Здесь мы наоборот, с помощью антибиотика широкого спектра действия подавляли микрофлору, измеряя дыхание моллюска. С этой целью, после определения суммарного потребления кислорода до его остаточного содержания 3 мг/л и замены воды на более аэрированную, в респирометрическую ёмкость с моллюском вносили рабочий раствор стрептомицина из расчета конечной концентрации 0,1 мг/мл. Определяли скорость процесса как при реальной температуре (4 °С), так и в экспериментальных условиях (25 °С), типичных для летнего периода. Предварительно часть особей адаптировалась к этой температуре в течение двух суток. В дальнейшем, измерив потребность в кислороде бактериопланктона, вычисляли вклад непосредственно ассоциированной с мидией микрофлоры.

При определении размерно-весовых характеристик гидробионтов использовали соответствующие формулы пересчета (Биоэнергетика гидробионтов, 1990; Brown et al., 2004; Алимов и др., 2013).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Обработанные согласно методическим особенностям данные представлены в таблице 1. При этом следует иметь ввиду, что для гидробионтов и бактерий-сателлитов они рассчитаны на единичную особь вне зависимости от ёмкости измерительной камеры, в нашем случае равной 60 см³. В то же время, поглощение кислорода бактериопланктоном в черноморской воде приведено конкретно для этой ёмкости, что предполагает коррекцию полученных значений при пересчете на иные объёмы.

Таблица 1

Скорость потребления кислорода в системе сообщества представителей макробентосных организмов (МО), бактерий-сателлитов перифитона (B_S) и свободноживущей водной микрофлоры (B_W)

Объект исследования	t, °С	Потребление кислорода, мкг/ч			
		МО+B _S +B _W	МО	B _S	B _W
Мидия	4	12,5±2,6	8,3±2,2	2,3±2,5	1,9±2,1
	23	110,6±22,7	40,3±5,6	60,5±2,5	9,8±0,4
Гаммарус	27	23,6±1,8	4,4±0,3	10,4±3,9	8,8±3,6
Полихета	28	14,5±3,0	2,6±1,0	5,1±2,1	6,8±0,6

Так, если выразить наши результаты через БПК₅, получим колебание от 4 мг О₂/л при 4 °С до 20 мг О₂/л в летний период. Это превышает приведенные в литературе значения (Дбар и др., 2018; Рябушко и др., 2020), что связано с отклонением температурного режима, условий транспортировки и хранения используемой морской воды. Тем не менее, данный параметр в расчетах выполняет вспомогательную функцию, и его величина при этом не имеет принципиального значения. Вычитая его, мы получаем то значение, которое принято считать скоростью потребления кислорода гидробионтами (Алимов и др., 2013) или скоростью обмена (Сушня, 1972), что в нашем случае соответствует сумме значений в графах МО и В₅. В частности, для гаммаруса оно составляет 14,8 мкг О₂/ч. При этом, рачок весом 8,2 мг при температуре 25 °С потреблял в среднем 4,4±0,3 мкг О₂/ч, что более чем в два раза меньше, чем ассоциированные с ним перифитонные бактерии.

Многочисленными экспериментами показано, что для ракообразных при 20 °С зависимость СПК от массы тела описывается уравнением $Q = 0,18W^{0.75}$, где W – вес особи в граммах сырого веса (Винберг, 1983; Алимов и др., 2013). Л. М. Сушня предлагает обобщенную формулу для амфипод в следующем виде: $Q = 0,142W^{0.79}$ (Сушня, 1972). Это дает более низкие значения, но далее он замечает, что такой уровень характерен для малоподвижных особей, в противном случае коэффициент a перед весом животного будет близок к 0,2. Тогда, в нашем случае, для рачка массой 0,0082 г при 25 °С значение Q составляет 0,0049 мл О₂/экз/ч, или в весовых единицах и с учётом температурной поправки Вант-Гоффа – 10,64 мкг О₂/ч. Как можно видеть, это значение близко к полученной нами суммарной респираторной активности гаммаруса и связанных с ним бактерий (14,8 мкг/ч), а доля потребления кислорода непосредственно рачком составила порядка 30 % от этой величины.

Для полихет уравнение имеет вид: $Q = 0,130W^{0.81}$ (Камлюк, 1974). Тогда особь весом в 0,0056 г согласно аналогичным расчетам должна потреблять кислорода порядка 5,6 мкг/ч, что соответствует у нас сумме значений в графах МО и В₅ (7,7 мкг О₂/ч). При этом вклад в этот процесс непосредственно животного составляет лишь 34 %.

Таким образом, исследования респираторной активности гидробионтов в совокупности со связанной с ними сапрофитной микрофлорой показали, что в тёплое время года доля животного в этой системе, как правило, не превышает 30–40 %, а в общем потреблении кислорода с бактериопланктоном была ещё меньше – порядка 20 % (рис. 1).

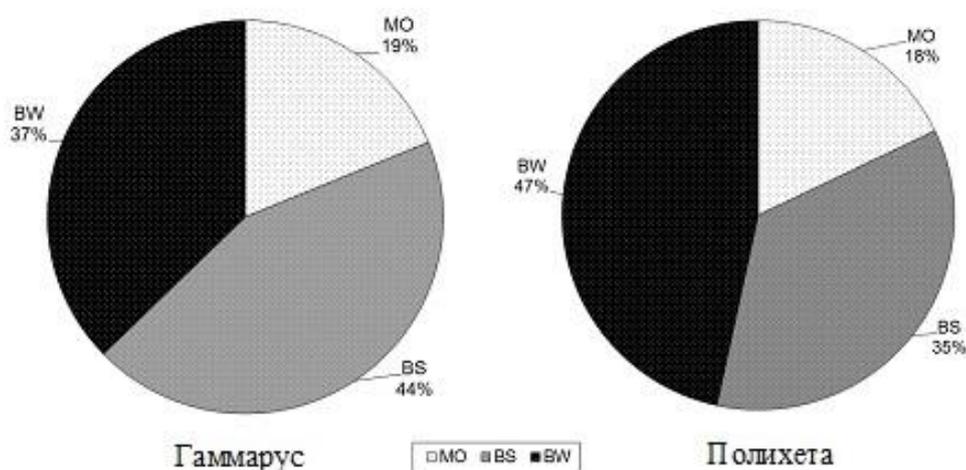


Рис. 1. Респираторная активность в системе макроорганизм-хозяин (МО), бактериопланктона (BW), а также сапрофитной водной микрофлоры (BS)

Сообщалось (Жаворонкова и др., 2017), что с повышением температуры воды с 7 до 25 °С происходит устойчивый рост уровня потребления кислорода моллюсками *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906), достигающее максимального значения при температуре 20 °С. Температурный оптимум для мидий несколько ниже, порядка 14–15 °С (Сухотин, 1988). При этом, потребление кислорода в условиях нормоксии (95–97 % насыщения) и температуре воды 17–20 °С у *Anadara inaequivalvis* (Bruguiere, 1789) составляло $0,040 \pm 0,014$ мг O₂/час/экз, что в 7 раз ниже, чем у мидий – $0,284 \pm 0,065$ мг O₂/час/экз. (Солдатов и др., 2005). Следует заметить, что для исследования отбирались особи анадары с длиной раковины 30–33 мм, а *M. galloprovincialis* – размером 50–55 мм. По данным испанских исследователей особи средиземноморской мидии размером $60,06 \pm 0,84$ мм потребляют кислород со скоростью $0,482 \pm 0,015$ мл/ч (Samacho et al., 2000).

Проведенные нами зимой исследования дыхания мидий при естественной температуре, а также в экспериментальных условиях, соответствующих летнему периоду, показали, что в холодное время года потребление кислорода моллюсками сокращалось почти в 5 раз, тогда как активность перифитонной микрофлоры снижалась в 26 раз (рис. 2).

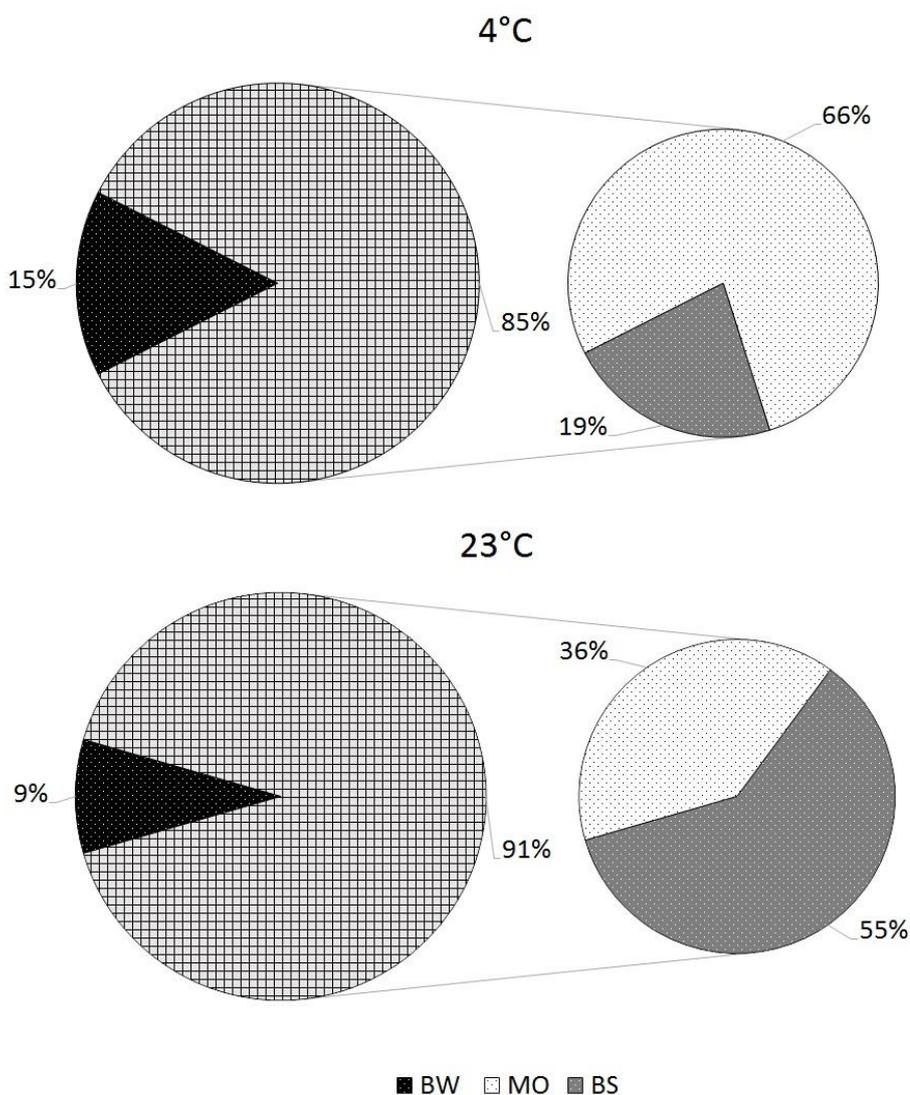


Рис. 2 Соотношение скорости дыхания в мидийно-бактериальном сообществе при температурных условиях среды обитания (4 °С) и при экспериментальных условиях, моделирующих летний период (23 °С)

В результате, доля животного возростала до 66 % против 36 % в теплой среде. Как видно, в оптимальных температурных условиях данные, полученные с помощью разных методических подходов, оказались близкими. Зимой же в общем потреблении кислорода увеличивалась также и доля свободноживущей водной микрофлоры с 9 % до 15 %, несмотря на то, что количественно скорость дыхания бактериопланктона, тем не менее, снижалась в 5 раз.

Предложено несколько степенных выражений, описывающих скорость потребление кислорода двустворчатыми моллюсками, в частности мидиями, что указывает на зависимость этого параметра от условий окружающей среды и физиологического состояния животного. Вариативность связана в основном с коэффициентом, тогда как степенной показатель достаточно стабилен в пределах 0,68–0,72. Так, потребление кислорода в нашем случае для экземпляра размером 3 см после пересчета на вес тела и в соответствии с формулой $Q = 0,066W^{0,721}$ (Алимов и др., 2013) составляет – 119 мкг O_2 /ч/экз. Для моллюсков той же размерности расчет по формулам, приведенным к температурам 7 и 14 °С дали соответственно 106 и 180 мкг O_2 /ч/экз (Золотницкий и др., 2018). Как видно, эти значения соответствуют полученному нами суммарному потреблению кислорода животным и ассоциированными с ним бактериями.

Хотелось бы обратить внимание, что полученные нами результаты потребления кислорода сателлитной микрофлорой, по всей видимости, несколько завышены. Какую-то дополнительную прибавку в ходе утилизации поступающего органического вещества в результате жизнедеятельности животного дают также и представители бактериопланктона. Ведь мы определяем и в дальнейшем вычитаем из суммарного значения скорость поглощения кислорода в морской воде, лишенной представителей фауны, и соответственно, их биологических выделений. Сообщалось в частности, что суммарная масса биоотложений, образованных при выращивании мидий, составляет более 30 % от массы урожая выращенных моллюсков (Золотницкий, 2011).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, если вклад свободноживущей водной микрофлоры всё же учитывается в ходе измерения дыхания гидробионтов, то потребление кислорода сопутствующими бактериями–сожителями обычно включается в их совместную респираторную активность. Из этого следует, что имеющиеся данные по интенсивности дыхания водных животных, по-видимому, несколько завышены. И если при некоторых исследованиях на макроуровне это не является принципиально важным, то такой подход при изучении физиологических особенностей отдельных особей, связанных с энергетическими потоками, может привести к искажению результатов.

Благодарности. Автор выражает признательность к б. н. В. А. Тимофееву и м. н. с. Л. В. Бондаренко за помощь в сборе материала для исследования.

Работа подготовлена по теме №0556-2021-0003 государственного задания ФИЦ ИнБЮМ «Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом», номер гос. регистрации 121041400077-1.

Список литературы

- Алимов, А. Ф., Богатов В. В., Голубков С. М. Продукционная гидробиология / [Под ред. В. В. Хлебовича]. – СПб: Наука, 2013. – 342 с.
Биоэнергетика гидробионтов / [Ред. Г. Е. Шульман, Г. А. Финенко]. – Киев: Наук. думка, 1990. – 246 с.
Винберг Г. Г. Температурный коэффициент Вант-Гоффа и уравнение Аррениуса в биологии // Журнал общей биологии. – 1983. – Т. 44, № 1. – С. 31–42.

Дбар Р. С., Гицба Я. В., Эмба Я. А. Термический режим поверхностного слоя вод и окислительные процессы в прибрежной зоне сухумской акватории Черного моря // Наука юга России. – 2018. – Т. 14, № 4. – С. 53–60.

Жаворонкова А. М., Золотницкий А. П., Сытник Н. А. О влиянии массы тела и температуры воды на интенсивность дыхания анадара – *Anadara ka-goshimensis* (Tokunaga, 1906) Азово-Черноморского бассейна // Ученые записки Таврического национального университета имени В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2017. – Т. 3, № 4. – С. 70–81.

Золотницкий А. П. О влиянии крупномасштабного культивирования мидии (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) на экосистему шельфовой зоны Черного моря // Ученые записки Таврического национального университета имени В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2011. – Т. 24, № 4. – С. 73–82.

Золотницкий А. П., Сытник Н. А., Горбенко В. А. К вопросу взаимосвязи процессов дыхания и питания черноморской мидии (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck) // Актуальные вопросы рыболовства, рыбоводства (аквакультуры) и экологического мониторинга водных экосистем: Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию Азовского научно-исследовательского института рыбного хозяйства. (Ростов-на-Дону, 11–12 декабря 2018 г.). – Ростов-на-Дону, 2018. – С. 53–56.

Камлюк Л. В. Энергетический обмен у свободноживущих плоских и кольчатых червей и факторы его определяющие // Журнал общей биологии. – 1974. Т. – 35, № 6. – С. 874–885.

Рябушко В. И., Щуров С. В., Ковригина Н. П., Лисицкая Е. В., Поспелова Н. В. Комплексные исследования экологического состояния прибрежной акватории Севастополя (Западный Крым, Черное море) // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон моря. – 2020. – № 1. – С. 103–118. DOI: 10.22449/2413-5577-2020-1-103-118

Солдатов А. А., Столбов А. Я., Головина И. В., Андреев Т. И., Холодов В. И. Тканевая специфика метаболизма у двустворчатого моллюска-вселенца *Anadara inaequalis* Br. // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2005. – 4, № 27. – С. 230–232.

Сухотин А. А. Дыхание беломорских мидий в условиях культивирования // Экология. – 1988. – № 2. – С. 55–60.

Сушеня Л. М. Интенсивность дыхания ракообразных. – Киев: Наук. думка, 1972. – 195 с.

Сытник Н. А., Золотницкий А. П. Энергетический бюджет и эффективность использования пищи на рост у черноморской мидии (*Mytilus galloprovincialis*) // Экосистемы. – 2019. – № 20 (50). – С. 105–116.

Чекалов В. П., Бондаренко Л. В., Тимофеев В. А. Потребление кислорода как совокупность респираторной активности *Echinogammarus olivii* и ассоциированной с ними микрофлоры // Биоразнообразие и механизмы адаптации организмов в условиях техногенного загрязнения: Материалы Всероссийской научной конференции (Сибай, 17–18 сентября 2015 г.). – Сибай, 2015. – С. 69–72.

Brown J. H., Gillooly J. F., Allen A. P., Savage V. M., West G. B. Towards a metabolic theory of ecology // Ecology. – 2004. – Vol. 85. – P. 1771–1789.

Camacho A. P., Labarta U., Navarro E. Energy balance of mussels *Mytilus galloprovincialis*: the effect of length and age // Marine Ecology Progress Series. – 2000. – Vol. 199. – P. 149–158.

Chekalov V. P. Contribution of periphyton microflora to joint oxygen consumption in process of measuring the respiration rate of aquatic animals // Ekosistemy. 2021. Iss. 28. P. 82–87.

An attempt was made to separate out the level of oxygen consumption by the periphyton microflora associated with body surface of three representatives of zoobenthos: amphipods, polychaetes and mollusks while measuring the respiration speed. Conventional methods are based on fixing the loss of oxidant in closed containers. In this case, the total speed of the process is determined. Adjustments are usually made only for plankton bacteria. Two approaches were applied to differentiate the flows of oxygen consumption. In one of them, the death of the animal was achieved as a result of natural asphyxia due to depletion of oxygen. Further, its bacterial utilization was determined after re-saturation. In second case, on the contrary, the activity of microflora was suppressed with the help of a broad-spectrum antibiotic (streptomycin). In result, fairly close ratios were obtained. Thus, in the warm season, the contribution of individuals of gammarus and polychaetes, measured by the first method, was 30–40 %. The study with *M. galloprovincialis* was carried out applying the second approach at two temperature regimes: at current temperature of the habitat (4 °C) and at experimental temperature (23 °C), simulating the summer period. The proportion of hydrobiont also was in the same range (36 %) in the warm season but it increased to 66 % in winter conditions. Hence, it can be concluded that the available data on the respiration speed of aquatic animals, apparently, are somewhat overestimated.

Key words: respiration of aquatic organisms, oxygen consumption, periphyton, Black Sea.

Поступила в редакцию 02.02.21

Принята к печати 03.04.21