

ЭКОЛОГИЯ МОРЯ



26

1987

Наиболее благоприятным временем для сбора моллюсков следует считать весну и осень.

У мидий Крымского побережья отмечены более высокие концентрации биохимических показателей, чем у мидий с северо-западной части Черного моря. Высокое содержание стерина способствует быстрому росту мидий, которые на Крымском побережье за год достигают 70 мм, тогда как в северо-западной части Черного моря они вырастают до 20—30 мм за этот же период.

Таким образом, колебания пищевой ценности моллюсков определяются изменениями в содержании биохимических компонентов, на которые в свою очередь оказывают влияние многие факторы, наиболее важные из них следующие: температура морской воды, содержание в ней кислорода, возраст моллюска, физиологическое состояние и др.

1. Золотницкий А. П., Кузнецов Ю. В., Борисов Л. А., Крючков В. Г. Культивирование мидий в Черном море // Рыбное хоз-во. 1983. — № 11. — С. 45—46.
2. Кларо Р., Ланин В. И. Изменение некоторых биохимических показателей органов и тканей *Lutianus synagris* (L) залива Батабаны во время созревания половых продуктов // Вопр. ихтиологии. — 1971. — 11, вып. 5. — С. 877—891.
3. Ballantine James A. The sterols of crustaceans: decapods (sub-order Macrura) // Comp. Biochem. and Physiol. — 1980. — 67, N 1. — P. 75—79.
4. Bligh E., Dyer W. A rapid method of total lipid extraction and purification // Can. J. Biochem. Physiol. — 1959. — 37, N 8. — P. 911—917.
5. Seifter S., Dayton S. The estimation of glycogen with the antrone reagent // Arch. Biochem. Biophys. — 1950. — 25, N 1. — P. 191—200.

Одес. отд.
Ин-та биологии юж. морей
им. А. О. Ковалевского АН УССР

Получено
26.06.85

R. P. KANDYUK, V. I. LISOVSKAYA

CERTAIN BIOCHEMICAL PARAMETERS OF THE BLACK SEA MUSSELS UNDER CONDITIONS OF MARICULTURE AND NATURAL SOILS

Summary

The main biochemical parameters (proteins, lipids, sterols, carbohydrates) of mussels grown in experimental-commercial farms of the Crimean and Odessa coastal region and under natural conditions are investigated. Lipid and sterol fractions were determined as well. A high amount of sterols has been noted in mussels of the Crimean coast as compared to those of the north-western part of the Black Sea.

УДК 576.8.095.23:551.46.09:628.62:634.2(262.5)

А. А. ЛЕБЕДЬ, Л. Н. КИРЮХИНА

АНАЭРОБНАЯ МИКРОФЛОРА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ С ДОННЫМИ ОСАДКАМИ, СОДЕРЖАЩИМИ УГЛЕВОДОРОДЫ

Попавшая в море нефть со временем опускается на дно и накапливается в донных осадках. Особенно это характерно для закрытых бухт с малыми глубинами и слабым водообменом. При недостаточном доступе кислорода к донным осадкам в последних образуются анаэробные условия, при которых процессы окисления нефти замедляются. Это в конечном итоге приводит к хроническому загрязнению акватории.

В литературе имеются сведения о преобразовании углеводородов нефти в речных донных отложениях в анаэробных условиях [8]. Однако они крайне ограничены, а о морских осадках практически отсутствуют.

Целью настоящей работы явилось изучение изменения численности некоторых анаэробных групп микроорганизмов, принимающих участие в процессах преобразования углеводородов в донных осадках.

Материал и методы. В эксперименте использованы пробы натуральных донных осадков, отобранных на трех станциях в одной из бухт юго-западной оконечности Крыма. Донные осадки отличались друг от друга морфологическими, физико-химическими, микробиологическими характеристиками, а также по содержанию в них нефтепродуктов.

Донный осадок ст. 1 (проба № 1) был отобран в вершине бухты с глубины 10 м; представлял собой ил со слабо восстановительными условиями среды ($E_h = -39$ мВ), pH 7,45. Повышенное содержание органического вещества (7,22%) не связано с углеводородными включениями. Количество углеводов составляло 0,31 г/100 г сухого осадка, или 5,8% общего количества органического вещества.

Донный осадок ст. 2 (проба № 2), отобранный в срединной части бухты с глубины 14 м, также представлял собой ил черного цвета, отличался восстановительными условиями среды ($E_h = -154$ мВ), нейтральной активной реакцией (pH 7,60). В нем содержалось 8,95% органического вещества, значительная часть которого представлена углеводородами (52,7% или 4,61 г/100 г сухого осадка).

Ил с примесью песка ст. 3 (проба № 3), отобранный на примыкающей к бухте акватории с глубины 20 м, имел положительный окислительно-восстановительный потенциал ($E_h = +39$ мВ) и pH 7,65. Содержание органического вещества составило 0,64%, в котором на долю углеводов приходилось лишь 3,1%. Добавленная в пробу сырая нефть (из расчета 0,5 мл на 100 г сухого грунта) увеличила содержание органического вещества до 1,92%.

Навеску 200 г каждого грунта помещали в стерильные медицинские склянки емкостью 0,5 л, оставшееся пространство до верха заполняли средой Зейкуса [9], насыщенной смесью газов $H_2 + CO_2$ (80+20%). В контрольные склянки вначале к донным осадкам добавляли формалин в концентрации 1% объема, а затем их заполняли средой Зейкуса. Горло склянки закрывали пробками из вакуумной резины с завинчивающимися металлическими держателями. Для окончательного вытеснения кислорода с помощью двух медицинских игл через среду пропускали газ аргон. Затем в опытные склянки через резиновые пробки вводили стерильные медицинские иглы с надетым тонким резиновым шлангом, конец которого помещали под водяной затвор. Таким образом отводили образующиеся в процессе жизнедеятельности анаэробных микроорганизмов газы. Склянки инкубировали в термостате при 30 °C в течение четырех месяцев. При такой температуре создавались оптимальные условия для развития анаэробов. Учет четырех групп микроорганизмов осуществляли при высеве их на соответствующие среды. Сульфатредукторы и денитрифицирующие бактерии выращивали на элективных средах с учетом солености воды [6], биоценоз бродильных микроорганизмов получали на среде с пептоном [5]. Углеводородокисляющие бактерии культивировали на минеральной среде Диановой-Ворошиловой, нефть в пробирки вносили на кусочках стерильной фильтровальной бумаги перед заполнением их доверху средой. Во все среды в качестве восстановителя добавляли 3%-ный раствор $Na_2S \cdot 9H_2O$.

В исходных пробах и при снятии эксперимента проводили посев грунта (навеска 1 г) методом предельных разведений, которые готовили в физиологическом растворе. В ходе эксперимента изучали микрофлору, поступившую из донных осадков в среду Зейкуса. Среду отбирали один раз в месяц стерильным медицинским шприцом, готовили в физиологическом десятикратные разведения, из которых проводили посев на вышеуказанные четыре среды. Посевы инкубировали в термостате при 30 °C в течение 10 сут.

Для определения изменений, произошедших с углеводородами в анаэробных условиях, из хлороформного битумоида донных осадков получали хроматограммы метано-нафтенной фракции по ранее описанной методике [1].

**Изменение численности анаэробных групп микроорганизмов
в эксперименте за 120 сут**

Группа микроорганизмов	Исходный грунт, кл./г	Среда Зейкуса, кл./мл			Грунт, после снятия опыта, кл./г
		1-й месяц	2-й месяц	3-й месяц	4-й месяц
Проба № 1					
Сульфатредукторы броидильные углеводородокис- ляющие	10 ³	10 ⁴	10 ³	10 ⁴	10 ⁴
	10	10 ⁵	10 ³	10 ²	10 ³
	Нет	1	1	10	Нет
Проба № 2					
Сульфатредукторы броидильные углеводородокис- ляющие	10	10 ⁴	10 ³	10 ³	10 ³
	10 ⁶	1	10 ⁴	10 ²	10 ²
	Нет	10	1	1	10
Проба № 3					
Сульфатредукторы броидильные углеводородокис- ляющие	Нет	10 ⁴	10 ³	10 ⁴	10 ⁴
	10 ²	10 ³	10 ³	10	10 ³
	Нет	1	1	1	10

Результаты и обсуждение. Полученные данные (таблица) показали, что в исходном грунте пробы № 1, в которой органическое вещество было неуглеводородного характера, сульфатредукторы составили 10^3 кл./г. Меньше их было в насыщенном углеводородами донном осадке пробы № 2 (10 кл./г) и не было обнаружено в чистом грунте пробы № 3.

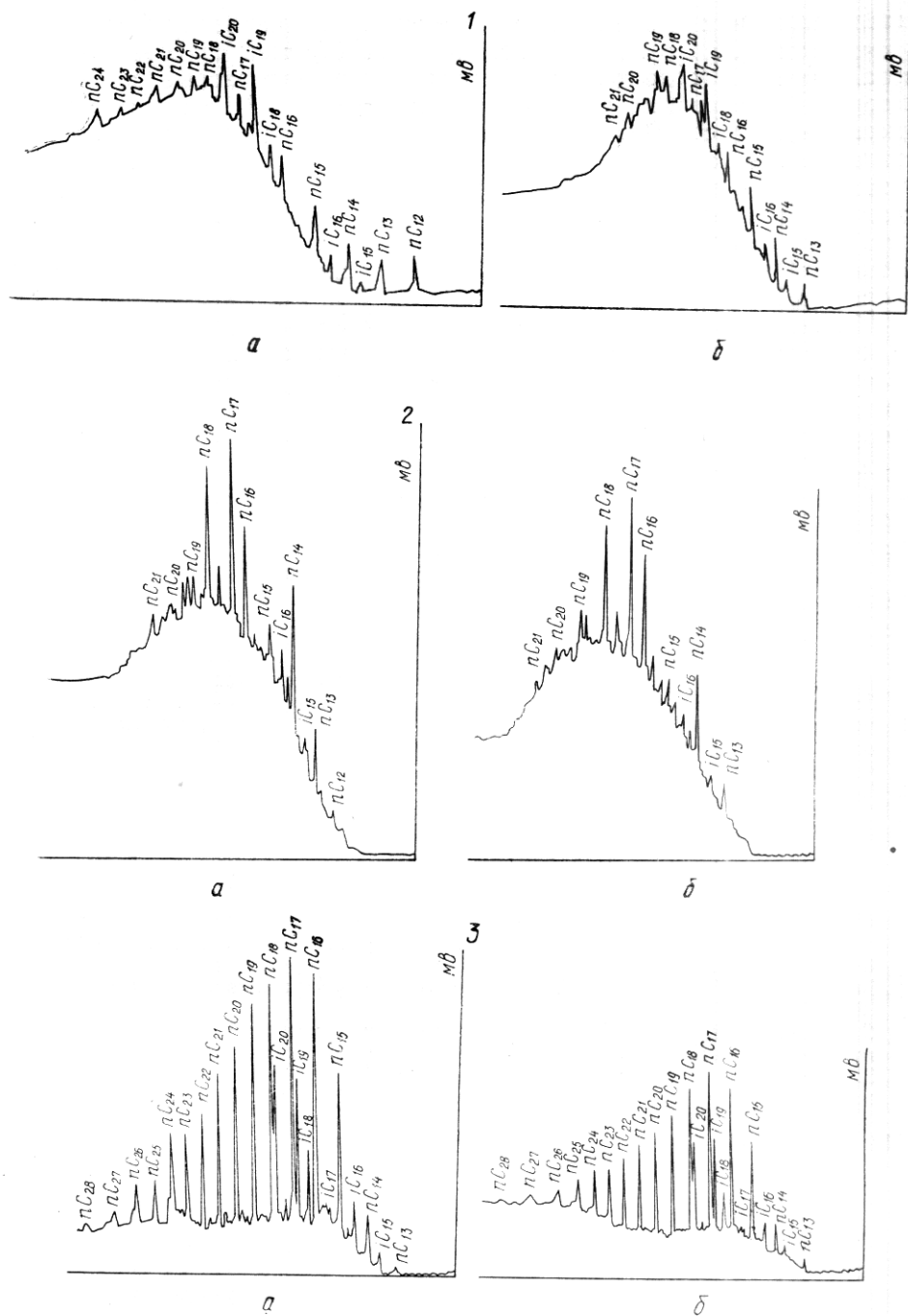
Количественный учет броидильщиков показал, что численность их колебалась в зависимости от характера загрязнения грунта органикой. В эксперименте с неуглеводородными донными осадками (проба № 1) вначале произошло резкое увеличение численности броидильщиков — от 10 кл./г в исходной пробе грунта до 10^5 кл./мл в среде Зейкуса, затем численность их стабилизировалась и к концу опыта составила 10^3 кл./г.

В опыте с донными осадками, содержащими значительное количество углеводородов (проба № 2), отмечена обратная картина — вначале произошло снижение численности броидильных микроорганизмов с 10^3 до 1 кл./мл, затем количество их резко увеличилось (до 10^4 кл./мл), но к концу опыта составило 10^2 кл./г.

Во всех трех образцах исходного грунта углеводородокисляющие микроорганизмы в исследуемой навеске не были обнаружены. В течение эксперимента они выделялись в небольших количествах. После четырехмесячной экспозиции в насыщенном углеводородами донном осадке (проба № 2) и в осадке с добавленной сырой нефтью (проба № 3) число углеводородокисляющих микроорганизмов составило 10 кл./г.

Денитрифицирующие бактерии на протяжении всего эксперимента не были обнаружены в отличие от ранее полученных результатов [4].

Таким образом, развитие облигатных анаэробов (сульфатредукторов, броидильщиков), бурное выделение газов и потемнение среды в опытных склянках свидетельствуют о том, что в эксперименте поддерживались анаэробные условия и происходило разложение органического вещества. Наличие углеводородокисляющих микроорганизмов связано, возможно, с содержанием сульфатов в донных осадках [2]. Вероятно, эти микроорганизмы вначале могут развиваться за счет оставшегося в среде растворенного кислорода, а затем в анаэробных условиях длительно сохранять свою жизнедеятельность, не проявляя функцию окисления нефти.



Хроматограммы метанонафтеновых углеводородов донных осадков проб № 1, 2, 3:
а — контроль, б — опыт

Представленные на рисунке хроматограммы свидетельствуют о том, что в пробе № 1 количество алканов меньше, чем в насыщенном углеводородами иле пробы № 2. И вполне естественно, алканов больше всего находилось в пробе № 3, куда была добавлена сырая нефть. Следует отметить, что в опыте пробы № 1 произошли незначительные изменения с изопреноидами пристаном и фитаном; в нормальных алканах особых количественных изменений не отмечено, качественно среди углеводородов опыта не обнаружены алканы, начиная с C_{22} . Содерж-

жание алканов в пробе № 2 практически не изменилось по сравнению с контролем (№ 2, а). Возможно, это связано с тем, что метано-нафтенная фракция содержала преимущественно нафтеносоединения, которые в анаэробных условиях не изменяются [7]. В опыте с песчаным илом и сырой нефтью (№ 3, б) углеводородов алканового ряда стало меньше по сравнению с контролем (№ 3, а). Вероятно, эти изменения произошли в первые несколько суток эксперимента, когда в песчаном иле могла преобладать аэробная микрофлора (подтверждением служит Eh, равный +39 мВ). Ранее было показано, что за 5 сут в морской воде в аэробных условиях происходит практически полное потребление парафинов [3].

Таким образом, в результате 120-суточного эксперимента было выявлено следующее. В донном осадке, содержащем на порядок больше углеводородов (пробы № 2, 3), на 2—4 порядка увеличилась численность сульфатредукторов и на порядок больше стало углеводородокисляющих микроорганизмов, чем было в исходном грунте. В донном осадке с небольшим содержанием углеводородов (проба № 1) количество сульфатредуцирующих и углеводородокисляющих микроорганизмов не изменилось после опыта, но на два порядка увеличилась численность бродильщиков.

Полученные результаты по деструкции алканов в грунтах свидетельствуют о том, что в анаэробных условиях процессы разложения нефтепродуктов очень замедленны.

1. Кирюхина Л. Н. Накопление углеводородов в донных осадках береговой зоны Черного моря // Биология моря. — Киев, 1979. — Вып. 50. — С. 24—28.
2. Кузнецова В. А., Горленко В. М. Влияние температуры на развитие микроорганизмов из заводняемых пластов Ромашкинского нефтяного месторождения // Микробиология. — 1965. — 34, вып. 2. — С. 329—334.
3. Миронов О. Г., Лебедь А. А. Микробиологическая характеристика морской среды Средиземноморского бассейна // Экспедиционные исследования в Средиземном море. — Обнинск: Изд-во ВНИИ гидрометинформ., 1980. — С. 41—48.
4. Миронов О. Г., Лебедь А. А. Развитие анаэробной микрофлоры донных осадков в присутствии нефти и нефтепродуктов // Анаэробные микроорганизмы: Тез. докл. — Пушкино, 1982. — С. 50—51.
5. Назина Т. Н., Розанова Е. П. Экологические условия распространения метанообразующих бактерий в нефтяных пластах Апшерона // Микробиология. — 1980. — 49, вып. 1. — С. 123—127.
6. Романенко В. Н., Кузнецов С. И. Экология микроорганизмов пресных водоемов. — Л.: Наука, 1974. — 193 с.
7. Симакова Н. В. и др. Изменение углеводородных и неуглеводородных компонентов нефтей метано-нафтенного типа в анаэробных условиях / Н. В. Симакова, З. А. Колесник, И. К. Норенкова и др. // Преобразование нефтей микроорганизмами. — Л.: Всесоюз. н.-и. геол.-развед. ин-т. — 1970. — С. 90—136.

Ин-т биологии юж. морей
им. А. О. Ковалевского АН УССР,
Севастополь

Получено
10.09.85

A. A. LEBED, L. N. KIRYUKHINA

ANAEROBIC MICROFLORA IN THE EXPERIMENT WITH HYDROCARBON-CONTAINING BOTTOM SEDIMENTS

Summary

The quantity of certain groups of anaerobic microorganisms taking part in transformation of oil products in grounds is studied in the experiment with bottom sediments containing different amounts of hydrocarbons. It is found that an increase in the amount of the sulphate-reducing, fermentative and hydrocarbon-oxidizing bacteria depends on the presence of organic matter either of the hydrocarbon or nonhydrocarbon character in bottom sediments. The presented chromatograms of methane-naphthalene hydrocarbons confirm information on a considerable retardation of oil product destruction processes under anaerobic conditions.