

7. Оскольская О.И., Тимофеев В.А. Зависимость развития жаберной поверхности *Unio pictorum* и *Anodonta stagnalis* Gmelin от содержания углеводов в грунтах //П съезд гидроэкологов Украины.- Киев, 1997.- С. 91.
8. Урбах В.Ю. Математическая статистика для биологов.- М, 1963.- 323 с.
9. Шадрин Н.В., Лезнев И.В. Изменение популяции *M.galloprovincialis* под влиянием сточных вод //Биоэнергетика гидробионтов.- Киев: Наук.думка, 1990.- С. 78-82.
10. Buyanovsky A.I. Four phenotypes of the mussel, *Mytilus trossulus* (Bivalvia) from different microhabitats. Quantified Phenotypic Responses in Morphology and Physiology (J.C. Aldrich,Ed.).- JAPAGA: Ashford, 1993. - P.1 43-146.
11. Shadrin N.V., Machkevsky V.K., Lezhnev I.V. Quantified phenotypic responses of mussels to entrophication. Quantified Phenotypic Responsens in Morphology and Physiology (J.C.Albrich,Ed.). - JAPAGA, Ashford, 1993. - P. .259-270.

Институт биологии южных морей НАНУ,
г.Севастополь

Получено 22.05..99

O.I. OSKOLSKAYA, V.A.TIMOFEYEV, L.V. BONDARENKO

THE EFFECT OF BLACK SEA SHELF POLLUTION ON MORPHOPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE MUSSEL *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LMK

Summary

Morphological and physiological characteristics of the mussel *Mytilus galloprovincialis* belonging to different size groups from coastal waters of the Crimea having the different level of anthropogenic pollution have been studied. Habit parameters of mussels from the most polluted bays differed positively. Carotenoid and lipid content and ATPase activity of mussels soft tissues decrease and the reduced specific surface and the number of gill filaments increase accordingly the pollution gradients. The increase of gill filament jagged is a compensation for the reduced physiological characteristics promoting to equalization of metabolic processes. This fact gives reason for using reduced specific surface and gill filament number as bioindicators of marine environment.

УДК 579:543.8(262.5)

Л. Л. СМЕРНОВА, Т. В. НИКОЛАЕНКО, Н. А. АНДРЕЕВА*,
Е. П. БАШИНСКИЙ*

ХИМИКО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИБРЕЖНЫХ МОРСКИХ ВОД С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА

В прибрежном мелководье бухты Казачьей (Севастополь) в районе размещения вольеров с морскими млекопитающими, где накапливаются продукты метаболизма животных, содержание N_{org} включая азот мочевины, аммонийного азота, содержание растворенного кислорода в весенне-летний период изменялось от 300 до 114 мкМ/л; численность гетеротрофных бактерий в морской воде достигала $10^3 - 2.1 \times 10^4$ кл/мл, уборабтерий - $10^2 - 8.3 \times 10^3$ кл/мл.

При экологическом контроле морских акваторий определяют ряд гидрохимических, гидрологических и биологических показателей, позволяющих оценить качество воды и его влияние на гидробионтов различных трофических уровней. Одной из важных характеристик морской среды служит количественный состав

бактериопланктона, участвующего в деструкционных процессах [10]. Аэробная деструкция в воде и илах является основным фактором, способствующим самоочищению морской воды. При вольерном содержании морских млекопитающих в прибрежном мелководье этот процесс недостаточно изучен.

Цель работы - определение содержания в морской воде в местах размещения вольеров с морскими млекопитающими основных продуктов метаболизма животных и наиболее активных групп бактерий, участвующих в самоочищении акватории.

Материалы и методы. Экспериментальные работы проводили в бухте Казачья (г. Севастополь) в районе вольеров с дельфинами афалина *Tursiops truncatus* и сивучами *Eumetopias jubatus* в весенне-летний сезон 1998 г. Пробы отбирали в двух постоянных точках с глубины 2 м один раз в месяц. Для точки 1 (вольер с афалинами), где глубина достигала 4-5 м, характерен хороший водообмен с бухтой. В точке 2 (вольер с сивучами) с максимальной глубиной 2,5 м водообмен затруднен. При отборе проб морской воды для химических и микробиологических анализов использовали стерильный стеклянный пробоотборник емкостью 1 литр. В пробах воды определяли величину pH, растворенный кислород, азот органических соединений ($N_{орг.}$), аммонийный азот ($N - NH_4^+$) по [2]; азот мочевины - по реакции в кислой среде с диацетилмоноксидом в присутствии тиосемикарбазида спектрофотометрически при λ 510 нм по [3]; растворенное органическое вещество (РОВ) спектрофотометрически при λ 260 нм [9].

Физиолого-биохимические свойства бактериального сообщества, участвующего в минерализации органического вещества (ОВ), изучали при инкубировании проб воды на элективных питательных средах на приборе BIOSCR (Labsystems, Финляндия) с использованием программы BIORTN. Подбор элективных сред и заполнение микроплашек для BIOSCR вели согласно [4]. Кроме того, использовали среды: Сорокина [8] и неорганическую с добавлением мочевины для уробактерий [1]. Численность гетеротрофных бактерий определяли методом посева по Коху на агаро-белковую среду с последующим подсчетом выросших колоний. Количество бактерий, аммонифицирующих белок, и уробактерий учитывали методом разведений на соответствующих питательных средах [1]. Химические анализы морской воды, подготовка микроплашек и начало работы на BIOSCR проводили в день отбора проб.

Результаты и обсуждение. В табл. 1 и 2 приведены результаты гидрохимических

Таблица 1. Химические показатели морской воды в бухте Казачья (точка 1)
Table 1. Chemical parameters of seawater (point 1)

Время отбора проб	Т° С	pH	O ₂ , мкМ/л	РОВ, мг/л	N, мкг-ат/л	
					Органич. соединений	Аммония
февраль	6,9	8,18	308,75	20,0	45,0	19,6
март	7,0	7,95	313,13	16,2	35,0	14,1
апрель	10,0	8,01	271,88	18,2	25,0	1,3
май	14,8	8,00	258,75	17,8	22,8	0,6
июнь	16,0	7,93	237,81	15,8	26,8	1,1
июль	20,9	8,44	206,88	18,5	28,0	3,9
август	26,9	8,46	185,00	30,0	45,7	10,5

исследований в районе вольеров с животными. Основными продуктами метаболизма, которые накапливались в морской воде, являлись $N_{орг.}$ и $N - NH_4^+$. Содержание растворенного кислорода в точке 1 составляло 69 - 80% насыщения, а в условиях затрудненного водообмена (точка 2) отмечены минимальные концентрации кислорода, достигающие в

летний период всего 44 - 55% насыщения. Наблюдаемое явление дефицита кислорода, по-видимому, связано с активными микробиологическими процессами деструкции ОВ. Однако концентрация РОВ, входящего в состав метаболитов млекопитающих, по сезонам практически не изменялась. При разложении азотсодержащего ОВ в момент гидролиза молекул сложного состава происходит отщепление аминокетильной группы и образуются ионы NH_4^+ . Содержание $N - NH_4^+$ изменялось по сезонам и достигало в апреле-июне минимальных значений. Деструкция ОВ сопровождается снижением

Таблица 2. Химические показатели морской воды
в бухте Казачья (точка 2)

Table 2. Chemical parameters of seawater (point 2)

Время отбора проб	Т° С	рН	O ₂ , мкМ/л	РОВ, мг/л	N, мкг-ат/л	
					Органич. соединений	Аммония
февраль	7,2	8,10	291,25	20,1	57,8	24,2
март	7,2	7,90	305,63	16,0	51,4	9,6
апрель	9,8	8,04	267,50	19,5	49,3	1,1
май	15,2	7,95	240,63	19,8	27,0	1,1
июнь	18,0	7,93	201,88	20,0	37,1	2,6
июль	22,4	8,39	155,31	21,0	48,6	6,2
август	27,2	8,41	114,06	23,0	32,5	12,0

величины рН морской воды [11], что характерно и для исследуемой акватории, особенно в точке 2 (табл.1,2). Постоянный приток органического углерода в виде продуктов метаболизма млекопитающих формировал в районе вольеров благоприятные условия для развития гетеротрофной микрофлоры. От весны к лету количество бактериальных

клеток в точках 1 и 2 существенно не изменялось (табл.3).

Таблица 3. Численность гетеротрофной микрофлоры в морской воде в местах размещения вольеров в бухте Казачья

Table 3. Number of heterotrophic bacteria in coastal seawater (Kazachiya Bay).

Время отбора проб	Точка 1			Точка 2		
	Бактерии, кл/мл			Бактерии, кл/мл		
	растущие на агаро-белковой среде	аммонифицирующие белок	аммонифицирующие мочевины	растущие на агаро-белковой среде	аммонифицирующие белок	аммонифицирующие мочевины
февраль-март	$6,6 \times 10^3$	$0,8 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$	$9,3 \times 10^3$	$1,2 \times 10^2$	$6,0 \times 10^2$
апрель - май	$2,1 \times 10^4$	$1,5 \times 10^2$	$4,5 \times 10^3$	$3,7 \times 10^3$	$4,1 \times 10^2$	$8,3 \times 10^3$
июль	$5,8 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2$
август	$4,3 \times 10^3$	$2,5 \times 10^2$	$9,5 \times 10^2$	$2,1 \times 10^4$	$1,6 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3$

Увеличение числа клеток уробактерий в пробах воды при добавлении специфического субстрата (мочевины) указывало на присутствие этого соединения в продуктах метаболизма морских млекопитающих. Результаты химических анализов показали, что появление мочевины в районе вольеров носило эпизодический характер. В летний период это соединение в воде не обнаружено, а в период с февраля по апрель концентрация азота мочевины достигала 7 - 10 мкг-ат/л, или 20 - 25% N_{орг}.

Микробное сообщество в районе вольеров гетерогенно по возрасту и физиологическому состоянию клеток. При инкубации проб воды на BIOSCR на элективных питательных средах наблюдался рост клеток, активность которых соответствовала потенциальной физиолого-биохимической активности бактериальных популяций в сообществе. На кривых роста промежутки времени до начала экспоненциальной фазы определялись чувствительностью прибора к возрастающей мутности инокулята, которая связана с исходной плотностью клеток, их размером и способностью к делению. При сравнительном анализе кривых роста морских бактерий на элективных средах можно отметить, что в деструкцию ОВ включались микроорганизмы различных трофических групп (рис. 1,2). Как показали полученные данные, наиболее активными биодеструкторами являются гетеротрофные бактерии, растущие на агаро-белковой среде (рис. 1, 2, кривая 1).

Высока активность микрофлоры, осуществляющей минерализацию ОВ в результате нитрификации. Аммонифицирующие белок бактерии росли после 5 - 10 ч инкубации, нитрифицирующая группа бактерий начинала рост немного позднее (рис. 1, 2, кривые 3, 5). В весенний период рост уробактерий наблюдался только после 45-75 ч инкубации, особенно активно в пробах воды из точки 2 (рис. 1Б, 2Б, кривая 6). В точке 1 гетеротрофные бактерии по активности уступали денитрифицирующим (среда Гильтая)

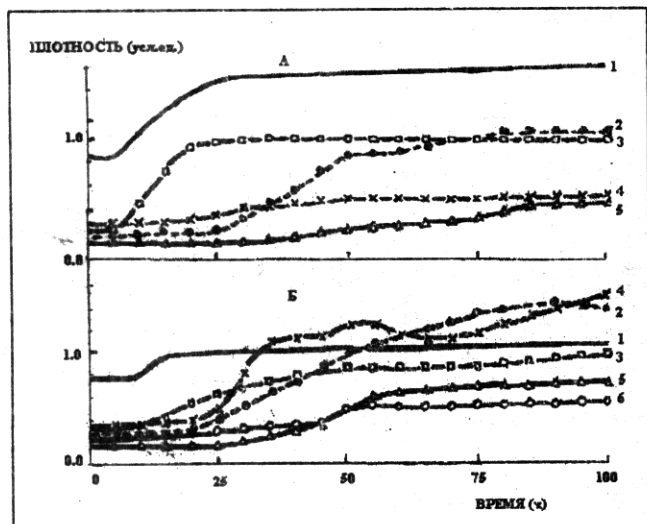


Рис. 1. Кривые роста хемогетеротрофных бактерий (А - лето, Б - весна) в пробе морской воды (точка 1) на средах: 1 - агаро-белковой, 2 - Гилтэя, 3 - МПБ, 4 - Сорокина, 5 - Виноградского, 6 - неорганической с добавлением мочевины.

Fig. 1 Growth curves of chemoheterotrophic bacteria (A - summer, Б - spring) in seawater sample (point 1) in media: 1 - with agar-albumene; 2 - Giltay; 3 - with albumene-peptone; 4 - Sorokin's media; 5 - Vinogradsky's media; 6 - inorganic with urea

гетеротрофных бактерий, которые близки группе *Agrobacterium* - *Phyllobacterium*. Эти бактерии, увеличивая эффективность использования ОВ (углеродного субстрата) в присутствии дополнительного источника энергии (тиосульфата, сульфита), в качестве источника азота используют мочевины и аммонийный азот. Они могут встречаться в прибрежных морских осадках, обогащенных свежим ОВ. Для изучения этой группы микроорганизмов в районе вольеров с морскими млекопитающими требуются дополнительные микробиологические исследования.

Итак, в прибрежном мелководье бухты Казачьей в районе размещения вольеров с морскими млекопитающими, при постоянном поступлении в морскую воду продуктов метаболизма животных и нестабильном кислородном режиме возможны разнообразные пути самоочищения акватории с участием гетеротрофной и хемогетеротрофной микрофлоры.

и тиоденитрифицирующим (среда Бейеринка) бактериям (рис. 1Б, кривые 1, 2). Согласно [5], постоянное поступление ОВ и близость донных осадков способствуют минерализации в результате использования бактериями энергии окисления нитратами восстановленных соединений серы [6].

Активный рост бактерий на среде Сорокина, содержащей ОВ, тиосульфат, фосфат, аммоний, наблюдался во всех пробах воды (рис. 1Б; 2А, Б; кривая 4). По-видимому, соединения серы включались в процесс самоочищения исследуемой акватории.

В связи с этим интересны сообщения [6,7] о выделении из вод Черного моря тиосульфатоокисляющих (сульфатобразующих)

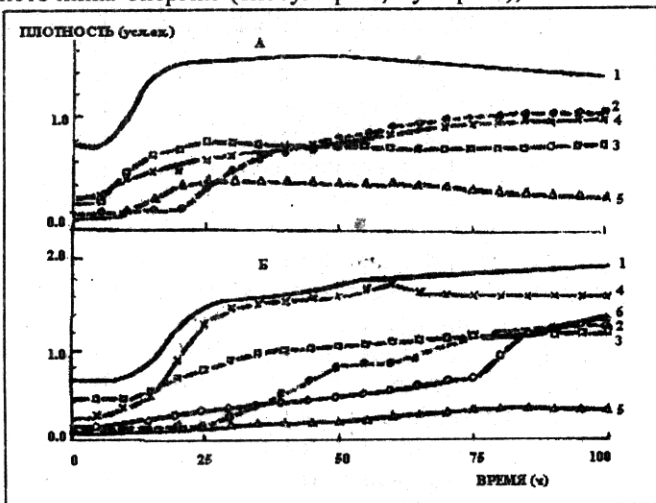


Рис. 2. Кривые роста хемогетеротрофных бактерий (А - лето, Б - весна) в пробе морской воды (точка 2) на средах (для обозначений см. рис.1)

Fig. 2 Growth curves of chemoheterotrophic bacteria (A - summer, Б - spring) in seawater sample (point 2) in media (see fig 1)

1. Аникеев В.В., Лукомская Н.А. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. - М., 1977.-128 с.
2. Методы гидрохимических исследований океана /Под ред. О.К.Бордовского, В.Н.Иваненкова.- М: Наука.- 1978.- 271 с.
3. Сапожников В.В. Методы гидрохимических исследований основных биогенных элементов.- М., 1988. - 110с.
4. Смирнова Л.Л. Деструкционная активность морских гетеротрофных бактерий биопленок естественных и антропогенных поверхностей //Экология моря.- 1999.-вып. 48. - С. 92-96.
5. Соколова Г.А., Каравайко Г.И. Физиология и геохимическая деятельность тионовых бактерий.- М., 1964. - 333 с.
6. Сорокин Д.Ю. Влияние тиосульфата на интенсивность ассимиляции углекислоты морскими гетеротрофными тиосульфатоокисляющими бактериями //Микробиология. - 1993. - 62, вып. 5.- С. 816-825.
7. Сорокин Д.Ю., Лысенко А.М. Характеристика гетеротрофных бактерий из Черного моря, способных окислять восстановленные серные соединения до сульфата //Микробиология.- 1993.- 62, вып. 5.- С. 1018-1030.
8. Сорокин Ю.И. Микрофлора грунтов Черного моря //Микробиология.- 1962.- 31, вып. 5.- С. 889-893.
9. Хайлов К.М., Горбенко Ю.А. Об участии сообществ перифитонных микроорганизмов в экологическом метаболизме в море //Океанология. - 1969.- 9, вып. 5.- С.834-844.
10. Четурнова Э.А., Жаров Н.А. Микробиологические показатели в оценке самоочищающей способности морских вод.//Экология моря.- 1987.- вып. 26.- С. 89-96.
11. Шульгина Е.Ф., Куракова Л.В., Куфтаркова Е.А. Химизм вод шельфовой зоны Черного моря при антропогенном воздействии.- Киев.,1978. - 121 с.

Институт биологии южных морей НАНУ

* Государственный Океанариум ВМС, НАНУ

г. Севастополь

Получено 10.04.99

L. L. SMIRNOVA, T.V. NIKOLAENKO, N.A. ANDREEVA, E.P. BASHINSKY

CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE COASTAL SEA WATER WITH INCREASED CONTANTS OF ORGANIC MATTER

Summary

Chemical and microbiological studies of sea water at the marine mammals enclosure in Kazachiya Bay (Sevastopol) have been carried out. Organic nitrogen (urea inclusively) and ammonia nitrogen as metabolites of marine mammals were accumulated in the coastal seawater. The maintenance of dissolved oxygen changed from $300 \mu\text{M l}^{-1}$ to $114 \mu\text{M l}^{-1}$ during spring-summer period. Dissolved oxygen content (DOC) was changing from 80 to 44% of saturation level that was presumably related with active microbiological destruction of the organic matter. Self-purification of the water area may go with the involvement of nitrifying, thiodenitrifying and denitrifying bacteria. The number of heterotrophic bacteria in seawater was 10^3 - $2.1 \times 10^4 \text{ cells l}^{-1}$ and urea-metabolizing bacteria was 10^2 - $8.3 \times 10^3 \text{ cells l}^{-1}$.