

ПРОВ 98

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ
МОРСКОЙ ГИДРОФИЗИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

ПРОВ 2010

**ДИАГНОЗ СОСТОЯНИЯ СРЕДЫ
ПРИБРЕЖНЫХ И ШЕЛЬФОВЫХ ЗОН
ЧЕРНОГО МОРЯ**

Сборник научных трудов

Институт биологии
южных морей ТН УССР
БИБЛИОТЕКА
№ 38354

Севастополь
1996

О.Г.Миронов, О.А.Степанова, О.Н.Пахорукова

МИКРОФЛОРА СЕВАСТОПОЛЬСКОЙ БУХТЫ

Дается краткая сводка многолетних исследований микрофлоры морской воды Севастопольской бухты, характеризующей нефтяное и хозяйственно-бытовое загрязнение. Приводятся материалы последних лет по обнаружению в морской воде вирусов (в том числе патогенных) и фагов.

В общем объеме изучения морских микроорганизмов в Черном море как индикаторов загрязнения и агентов в процессах самоочищения значительная часть приходится на систему Севастопольских бухт. Это обусловлено тем, что в этих бухтах проводятся систематические природоохранные исследования на протяжении более тридцати лет; на материалах Севастопольской бухты отрабатывались методы микробиологических исследований, которые затем применялись для природоохранных исследований в Мировом океане, включая международные проекты [1].

Известно, что подход к решению природоохранных вопросов зависит от конкретных акваторий, в частности, он различен для прибрежных и открытых районов моря. Основное направление исследований связано, во-первых, с изучением морской воды, во-вторых, донных осадков, в которых накапливаются загрязнения. И от процессов, происходящих в них с участием микрофлоры, зависит степень трансформации загрязнений, отмирание патогенных бактерий, а также возможность вторичного загрязнения морской воды. Поэтому микрофлоре донных осадков акватории Севастополя было посвящено значительное количество работ, включая обобщающие публикации [2].

Таблица 1
Повторяемость загрязнения нефтепродуктами
на поверхности Севастопольской бухты
в баллах (число случаев)

Балл	Время	9.00	16.00
1		8	4
2		12	16
3		14	15
4		4	3
5		2	2

В пользу изучения донных осадков свидетельствует и тот факт, что поверхностное загрязнение в виде пленок быстро перемещается по акватории и степень загрязнения морской воды может меняться в короткие промежутки (табл.1) [3].

В то же время неблагоприятное состояние Севастопольской бухты в целом и эпидемиологическая в частности диктует необходимость проведе-

ния исследовательских работ по микробиологической характеристике морской воды, которые в последние годы пополнились материалами нового направления исследований микромира — морских вирусов и фагов [4].

Из всего имеющегося разнообразия материалов по микрофлоре морской воды Севастопольской бухты остановимся на тех группах микроорганизмов,

Таблица 2
Встречаемость грибов в морской воде
Севастопольской бухты,
% от взятых проб субстрата

Род	%
<i>Mucor</i>	20
<i>Aspergillus</i>	80
<i>Cephalosporium</i>	40
<i>Gliocladium</i>	10
<i>Penicillium</i>	80
<i>Trichoderma</i>	30
<i>Fusarium</i>	10
<i>Chaetomium</i>	10
<i>Botrytis</i>	10
<i>Monilia</i>	10
<i>Cladosporium</i>	60
<i>Trichosporium</i>	10
<i>Stemphylium</i>	10

которые характеризуют химическое загрязнение, в частности, нефтяными углеводородами и компонентами бытовых сточных вод, характеризующиеся своими показательными микроорганизмами.

Наблюдение за нефтеокисляющей микрофлорой Севастопольской бухты начались в 1965 г. на системе станций, позволяющих проследить за численностью и видовым составом микроорганизмов, растущих на нефтепродуктах в акваториях, имеющих различную степень нефтяного загрязнения [5]. Полученные материалы по видовому составу и встречаемости микроорганизмов, способных расти на нефти в качестве единственного источника углерода и энергии, показали, что наиболее часто в этом районе моря встреча-

ются бактерии, отнесенные к родам *Bacterium* и *Pseudobacterium*, по числу выделенных культур — виды *Pseudomonas sinuosa* и *Pseudobacterium farcosum*. При этом отмечается некоторая закономерность: увеличение числа видов по мере продвижения от глубины бухты к ее выходу и далее в район открытого моря, что легло в основу для последующего использования данной группы бактерий как индикаторов нефтяного загрязнения [6].

Наряду с нефтеокисляющими бактериями в акватории Севастопольской бухты были выделены низшие грибы (табл.2), также способные использовать углеводороды нефти в качестве единственного источника углерода и энергии. Было изучено 46 культур грибов, относящихся к следующим родам: *Penicillium* (6), *Aspergillus* (4), *Verticillium* (4), *Gliocladium* (3), *Cephalosporium* (4), по одному представителю из родов *Trichoderma*, *Mucor*, *Stachybotris*, *Helminthosporium*, *Cladosporium* и из пикнидиальных грибов 3 штамма.

Последующие работы в этом направлении позволили получить более полные данные по этой группе микроорганизмов в Севастопольской бухте [4]. Наиболее частая встречаемость была у родов *Aspergillus* и *Penicillium*. Эти роды доминировали в Севастопольской бухте и в предшествующие годы наблюдений.

Необходимо отметить и еще одну группу бактерий — фенолоокисляющих (фенол может образовываться в результате микробиального окисления нефти и нефтепродуктов), поскольку их наличие свидетельствует о глубоких преобразованиях компонентов нефтяного загрязнения в море.

Численность этой группы бактерий была аналогична нефтеокисляющей микрофлоре: по мере увеличения концентрации фенола в воде увеличивалось количество фенолоокисляющих бактерий (с 38 кл/мл на ст.9 до 2380 кл/мл на ст.1), соответственно возрастала их фенолразрушающая активность (табл.3).

Таблица 3

Химические и бактериологические показатели фенольного загрязнения морской воды в акватории Севастополя

Номер станции	Количество фенола в морской воде, мг/л	Количество фенол-разрушающих микроорганизмов	Фенолразрушающая активность микрофлоры (остаточное количество фенола на 11 сутки в мг/л)*
1	0,008	2380	ниже чувствительности метода
2	0,008	2380	ниже чувствительности метода
3	0,009	2380	1,7
4	0,009	2380	4,0
5	0,010	2380	8,0
6	0,003	161	136,0
7	0,004	52	104,0
8	ниже чувствительности метода	52	111,0
9	ниже чувствительности метода	38	122,0

* Исходное количество фенола 140 мг/л.

Так, концентрация фенола, внесенного в морскую воду, отобранную на первых пяти станциях, снижалась в конце десятидневной инкубации в колбах с 140 мг/л до единиц и десятых долей миллиграмма, а в воде на ст.6-9 за тот же период подверглось биоразрушению всего 10-20% исходного фенола. В контрольных колбах с подавленной микрофлорой концентрация фенола за период инкубации не изменялась.

Интересным фактом являлись высокие величины микроорганизмов данной группы в зимний период. Это, по-видимому, объясняется накоплением значительных концентраций фенола в связи с небольшой активностью деструкционных процессов при пониженной температуре морской воды.

Полученные за длительный период результаты свидетельствуют о том, что характер углеводородокисляющей микрофлоры (численность, закономерности распространения и биохимические особенности углеводородокисляющих микроорганизмов) остались одинаковыми, чего нельзя сказать о следующей группе бактерий — показателя загрязнения акватории хозяйственно-фекальными водами.

Если взять за точку отсчета данные, полученные нами весной, летом и осенью 1962 г. (поскольку материалы, полученные санэпидеморганами, в открытой печати не публиковались), то результаты, представленные в табл.4, дают следующую картину [7].

Таблица 4

**Некоторые санитарные показатели морской воды
на пляжах и в местах стоянки судов**

Пункт наблюдения	Коли-титр	Микробное число
Пляж 1	0,1–0,01	880–4000
Пляж 2	10,0–0,01	130–1600
Пляж 3	10,0–0,1	24–1600
Пляж 4	1,0–0,1	240–640
Стоянка судов 1	5,0–0,02	20–520
Стоянка судов 2	0,01–0,001	1720–3200
Стоянка судов 3	0,1–0,01	5–170
Стоянка судов 4	0,1–0,0001	52–4480
Стоянка судов 5	0,01–0,03	1600–6420
Стоянка судов 6	10,9–0,01	78–890

Приведенные в таблице материалы свидетельствуют о значительном загрязнении морской воды хозяйственно-фекальными стоками, в частности, на пляжах 1 и 2, находящихся внутри бухты. При этом микробное число превышало тысячные показатели.

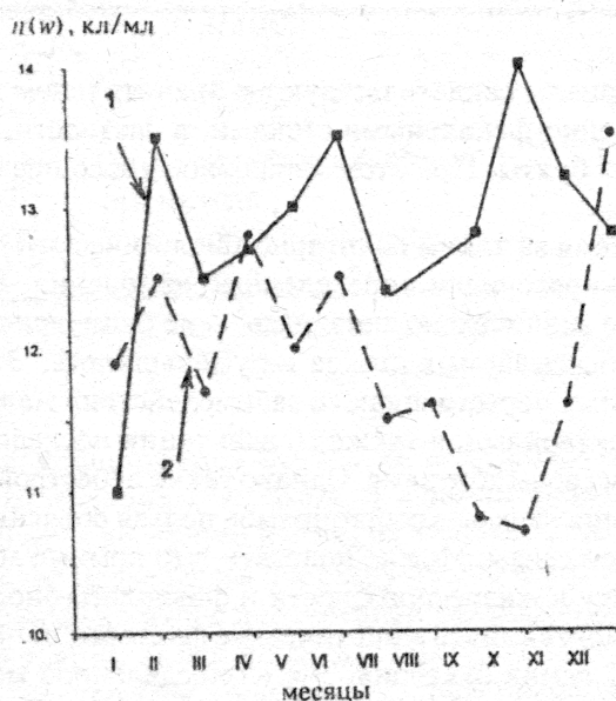
В последующие годы наблюдения за таким санитарно-биологическим показателем, как микробное число, претерпели определенные изменения. Его величина в Севастопольской бухте значительно снизилась — на один-два порядка и более, хотя количество сбрасываемых стоков не уменьшилось. Этот факт свидетельствует о значительных перестройках во взаимодействии между автохтонными и аллохтонными бактериями, а также об адаптации последней группы бактерий к новым условиям среды обитания. Однако такие перестройки в физиолого-биохимических особенностях микроорганизмов нельзя объяснить только влиянием факторов внешней среды. Можно полагать, что помимо абиотических факторов на перестройку в жизнеспособности и физиолого-биохимических особенностей бактерий могут влиять и биотические факторы, например, фаги, вызывающие "болезни" самих бактерий. Это в определенной мере относится и к группе углеводородокисляющих бактерий, поскольку в эксперименте не всегда можно было объяснить при стабильных параметрах среды изменение в биodeградационной активности чистых бактериальных культур.

В этой связи в Севастопольской бухте начаты систематические исследования по изучению с природоохранных позиций микропланктона. К этой группе относятся планктонные формы, проходящие через бактериальные фильтры с диаметром пор 0,2 мкм.

Одновременно с поисками вирусов и фагов автохтонного происхождения было проведено изучение наличия в воде Севастопольской бухты патогенных вирусов [8]. Анализ результатов исследований морской воды 1990–1994 гг. свидетельствует о том, что прибрежные воды г. Севастополя загрязнены вирусами, попадающими в море вместе со стоками. В 1990 и 1993 гг. энтеровирусы были выделены в летний период, что характерно для циркуляции кишечных

инфекций и соответственно попадания вируса вместе со сточной водой в море. В 1992 г. энтеровирусы были определены в воде, пробы которой были взяты в зимний период, что не является характерным для данной вирусной инфекции, однако и не исключает такую возможность.

Исследования морской воды на наличие антигена гепатита А методом иммуноферментного анализа (ИФА) проводились на протяжении 1992–1994 гг. При этом из 102 проб 9 оказались положительными. Интересно отметить, что антиген гепатита А определяли в тех же точках Северной бухты, где наиболее часто выделяли аденовирусы, вирусы Коксаки и полиомиелита (Апполоновская, Ушаковская бухты). Обращает внимание и факт выделения антигена гепатита А и энтеровирусов у открытого побережья (пляжи Учкеевка, Любимовка). Причем, антиген гепатита А определяли в пробах, отобранных как в летнее, так и в осенне-зимнее время, что говорит о том, что вирус гепатита А циркулирует среди населения города круглогодично, либо, попадая в морскую среду со стоками, он длительное время сохраняется в неспецифической для него среде, используя мало изученные способы и формы переживания.



Динамика численности микроорганизмов на фильтрах с диаметром пор 0,2 мкм (1) и 0,05 мкм (2)

0,2 и 0,05 мкм.

Динамика численности планктонной фракции 0,2 и 0,05 мкм представлена на рисунке. Максимальное количество клеток на фильтрах с диаметром пор 0,2 мкм наблюдалось в октябре (1,3 кл/мл); минимальное — в январе ($1,7 \cdot 10^5$ кл/мл). На фильтрах с диаметром пор 0,05 мкм наибольшее количество клеток отмечено в декабре ($7,7 \cdot 10^5$ кл/мл); наименьшее — в октябре ($4,6 \cdot 10^4$ кл/мл).

Для определения вирусов автохтонного происхождения морскую воду отбирали в стерильную посуду из поверхностного слоя в одном и том же районе Севастопольской бухты с декабря 1994 г. по декабрь 1995 г. Всего было отобрано 50 проб.

Эпифлуоресцентную микроскопию осуществляли по общепринятой методике, используя в качестве флуорохрома акридин оранжевый. Воду перед исследованием пропускали через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм. Для эпифлуоресцентной микроскопии применяли окрашенные суданом черным нитроцеллюлозные фильтры фирмы Сарториус с диаметром пор

Размерная фракция планктона 0,2 мкм представлена в основном палочковидными бактериями, 0,05 мкм — мелкими, тонкими, заостренными с двух концов палочками, которые под микроскопом выглядят как сине-зеленые остроконечные иголки.

В январе и феврале на фильтре с диаметром пор 0,05 мкм наблюдались микроорганизмы в виде тонких, длинных, бледно-зеленых образований. Иногда на этих же фильтрах обнаруживались хвостатые вирусоподобные микроорганизмы (головка и тонкий длинный хвост), а также очень мелкие округлые формы. Крайне редко встречались булабовидные формы. Полиморфизм характерен в зимние месяцы и для размерной фракции 0,2 мкм.

Начатое систематическое изучение морских микроформ в природоохранном аспекте наряду с традиционным исследованием бактериопланктона Севастопольской бухты позволит глубже проникнуть в процессы биотрансформации загрязнений в этом регионе. В свою очередь, данные работы являются составной частью широкого изучения экологической обстановки в акватории Севастополя, в частности, направленного на практическое решение природоохранных вопросов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Миронов О.Г. Наукові основи радянського міжнародного проекту біологічного моніторингу нафтового забруднення середземноморського басейну // Вісник АН УРСР. — 1978. — №8. — С.84-87.
2. Миронов О.Г. Бактериальная флора донных осадков // Основы биологической продуктивности Черного моря / Под ред. В.Н.Грезе. — Киев: Наук.думка, 1979. — С.199-207.
3. Миронов О.Г. К вопросу о загрязнении вод Черного моря нефтепродуктами // Динамика вод и вопросы гидрохимии Черного моря. — Киев: Наук.думка, 1967. — С.127-132.
4. Миронов О.Г., Степанова О.А., Губасарян Л.А. и др. Микромир в морских санитарно-биологических исследованиях. — Севастополь, 1995. — Манускрипт. — 95 с.
5. Миронов О.Г. Нефтеокисляющие микроорганизмы в море. — Киев: Наук.думка, 1971. — 233 с.
6. Миронов О.Г. О роли микроорганизмов, растущих на нефти, в самоочищении и индикации нефтяного загрязнения морей // Океанология. — 1970. — 10, №5. — С.820-827.
7. Миронов О.Г., Пиастро В.Б., Сиднев Б.Н. К санитарно-гигиенической характеристике Севастопольской акватории // Гигиена и санитария, 1965. — С.45.
8. Степанова О.А., Жильцова Н.Н. и др. Патогенные вирусы у берегов Севастополя // Морская санитарная гидробиология / Под ред. О.Г.Миронова. — Севастополь: СО "ЭКОСИ-Гидрофизика", 1995. — С.21-29.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г.Севастополь