

579.8:547.912(262.5)

Б91

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
им. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

БУРДИЯН
НАТАЛИЯ ВИТАЛЬевна



УДК 574.5/6 (262. 5)

**СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИЕ, ТИОНОВЫЕ,
ДЕНИТРИФИЦИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ В ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЕ
ЧЁРНОГО МОРЕЯ И ИХ РОЛЬ В ТРАНСФОРМАЦИИ НЕФТЯНЫХ
УГЛЕВОДОРОДОВ**

03.00.17- гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание научной степени
кандидата биологических наук

Севастополь – 2011

Диссертация является рукописью

Работа выполнена в Институте биологии южных морей им. А. О. Ковалевского
Национальной академии наук Украины, г. Севастополь

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор
Миронов Олег Глебович,
Институт биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского НАН Украины,
заведующий отделом
морской санитарной гидробиологии

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук,
старший научный сотрудник
Солдатов Александр Александрович,
Институт биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского НАН Украины,
заведующий отделом
отдела физиологии животных и биохимии

доктор биологических наук
Олейник Галина Николаевна,
Институт гидробиологии
НАН Украины,
старший научный сотрудник

Защита состоится «21» 09 2011 г. в 14 часов на заседании
специализированного ученого совета Д 50.214.01 Института биологии южных морей
им. А.О. Ковалевского НАН Украины по адресу: 99011, г.Севастополь,
пр.Нахимова,2

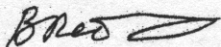
С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии южных
морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины по адресу: 99011, г.Севастополь, пр.
Нахимова, 2

Автореферат разослан «10» 08 2011 г.

Ученый секретарь

специализированного ученого совета Д 50.214.01

доктор биологических
наук



В.И. Рябушко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Нефть и её производные являются одними из наиболее распространенных загрязняющих веществ морской среды. Последние аварийные разливы нефтепродуктов в Керченском проливе (2007г.) и Мексиканском заливе (2010г.) показывают особую актуальность исследований процессов самоочищения прибрежной зоны моря, и в частности, биотрансформации углеводородов нефти. Основным агентом этого процесса являются микроорганизмы, способные использовать нефть в качестве единственного источника углерода и энергии. При современном масштабе поступления в море органики антропогенной природы в донных осадках и прибрежных наносах начинают преобладать анаэробные процессы преобразования органического вещества, значительно снижающие скорость его окисления. Ведущая роль в процессе анаэробной деструкции принадлежит сульфатредуцирующим, тионовым и денитрифицирующим бактериям. Эти бактерии принимают участие и в процессах преобразования углеводородов нефти в морской среде (Квасников и др., 1981, Shelton et al., 1975, и др.). В 80-х годах прошлого столетия в отделе морской санитарной гидробиологии ИнБЮМ НАН Украины изучали некоторые группы анаэробных бактерий у побережья Крыма и в западной части Чёрного моря (Миронов, 1988). В контактной зоне «суша-море» и, в частности, прибрежных наносах, исследования анаэробных бактерий не проводились.

В этой связи изучение численности и особенностей распространения сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих групп бактерий в прибрежных наносах и донных осадках, а также использование данными микроорганизмами углеводородов нефти в качестве единственного источника углерода и энергии является составной частью проблемы самоочищения прибрежной зоны моря от углеводородов нефти.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Настоящая работа выполнена в рамках фундаментальных исследований по госбюджетным темам Национальной академии наук Украины «Изучение биогеохимических закономерностей формирования потоков радиоактивных, минеральных, органических веществ природного и техногенного происхождения и обусловленного ими экологического риска для популяций критических видов в Чёрном море»: «Потоки нефтяных углеводородов и органических веществ основных классов в акватории контактной зоны «суша-море» (№ ДР 0103U001050, 2003-2007); «Разработка методов контроля состояния морской среды и технологий её оздоровления в районах активного природопользования»: «Систематизация по целенаправленному использованию морских организмов для контроля состояния морской среды и оздоровления акваторий. Выбор акваторий для размещения

Значения
инт
св

гидробиологических систем» (№ ДР 0107U005583, 2007-2009). В перечисленных темах диссертант участвовал в качестве исполнителя.

Цель и задачи исследования. Цель работы - определить численность и особенности распространения морских сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий в прибрежных наносах и донных осадках и выявить их роль в трансформации нефтяных углеводородов.

Для достижения цели поставлены следующие задачи:

- выяснить распространение и количественное содержание сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий в прибрежных наносах и донных осадках акватории Севастополя;
- экспериментально изучить динамику численности бактерий в отсутствии гидродинамического воздействия;
- исследовать рост тионовых и денитрифицирующих бактерий в экспериментально созданных анаэробных и аэробных условиях;
- испытать способность сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий использовать углеводороды нефти в качестве единственного источника углерода и энергии;
- оценить зависимость численности исследуемых групп бактерий от уровня нефтяного загрязнения.

Объект исследования – сульфатредуцирующие, тионовые и денитрифицирующие бактерии в прибрежных наносах и донных осадках акватории Севастополя.

Предмет исследования – роль сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий в процессах самоочищения прибрежной зоны моря от углеводородов нефти.

Методы исследования: комплексные методы гидробиологии и морской микробиологии (для выделения из донных осадков и прибрежных наносов сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий), общей микробиологии (для оценки морфологических, культуральных и физиолого-биохимических особенностей), математической статистики (для анализа и оценки достоверности полученных данных).

Научная новизна полученных результатов. Впервые в прибрежных наносах акватории Севастополя определены численность и особенности распространения сульфатредуцирующих, тионовых, денитрифицирующих бактерий. Выявлена способность сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий, обитающих в прибрежных наносах и донных осадках, использовать углеводороды нефтяного происхождения в качестве единственного источника углерода и энергии.

Практическое значение полученных результатов. Данные по количественному составу, особенностям пространственного распределения

и роли сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих групп бактерий в деструкции нефтяных углеводородов используются в мониторинговых исследованиях экологического состояния прибрежных зон Чёрного моря. Учет анаэробных и факультативно-анаэробных групп бактерий необходим для оценки способности акватории к самоочищению и разработки комплексных мероприятий по очищению прибрежной зоны моря от загрязнения нефтяными углеводородами.

Личный вклад соискателя. Диссертант принимал непосредственное участие в сборе, обработке и анализе материалов. Соискателем осуществлялись постановка научных задач, методические разработки, проведение лабораторных экспериментов, что подтверждается самостоятельностью публикаций основных материалов работы.

Апробация работы. Основные положения и результаты диссертации были представлены на II Международной научной конференции, посвященной 140-летию Одесского Национального Университета им. Мечникова (Одесса, 2005); IV съезде Украинского гидробиологического общества (Феодосия, 2005); Международной научной конференции "Проблемы биологической океанографии XXI века" (Севастополь, 2006); Другій міжнародній науковій конференції студентів і аспірантів "Молодь та поступ біології" (Львів, 2006); Международной научной конференции "Фундаментальные исследования важнейших проблем естественных наук на основе интеграционных процессов в образовании и науке" (Севастополь, 2006); IV Всеукраинской научно-практической конференции молодых ученых по проблемам Чёрного и Азовского морей "Понт Эвксинский IV" (Севастополь, 2005); VIII Международной научной конференции «Водные экосистемы, организмы, инновации – 8» (Москва, 2006); III міжнародній науковій конференції студентів і аспірантів "Молодь та поступ біології" (Львів, 2007); V Всеукраинской научно-практической конференции молодых ученых по проблемам Черного и Азовского морей "Понт Эвксинский V" (Севастополь, 2007); II Международной научной конференции «Современные проблемы гидробиологии. Перспективы, пути и методы решений» (Херсон, 2008); VI Международной научно-практической конференции молодых ученых, посвященной экологическим проблемам водных экосистем «Понт Эвксинский VI» (Севастополь, 2009); Международной научно-практической конференции «Биоразнообразие и устойчивое развитие» (Симферополь, 2010); V съезде Украинского гидробиологического общества (Житомир, 2010); научных семинарах отдела морской санитарной гидробиологии ИнБЮМ НАН Украины.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 22 работы (16 из них без соавторов), в том числе в изданиях, рекомендованных ВАК Украины, – 9 статей, 1 подраздел коллективной монографии, в материалах международных и региональных конференций – 12. Из научных работ,

опубликованных в соавторстве, в диссертации использованы только данные, полученные автором. Права соавторов публикаций не нарушены.

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на 157 страницах машинописного текста и состоит из введения, 7 разделов, выводов, списка используемой литературы. В тексте диссертации содержится 27 таблиц, 48 рисунков. Список использованных источников включает 182 наименования, в том числе иностранных – 66.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность и признательность научному руководителю и наставнику – доктору биологических наук, профессору, заведующему отделом морской санитарной гидробиологии ИнБЮМ НАН Украины О. Г. Миронову, а также коллективу отдела морской санитарной гидробиологии за помощь, оказанную в процессе работы. Особую благодарность автор выражает доктору биологических наук, профессору А. В. Гаевской за ценные советы и рекомендации. Соискатель считает приятным долгом поблагодарить за важные замечания доктора биологических наук, профессора, чл.-корреспондента НАН Украины В. Н. Егорова.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В разделе приведены данные по бактериальному окислению нефти в различных условиях азрации и особенностям биотрансформации нефтяных углеводородов в прибрежной зоне моря. Рассмотрено распространение сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий в морской среде. Отдельно изложено участие этих групп бактерий в анаэробной деструкции нефтяных углеводородов. Обоснована необходимость выполнения исследований по теме диссертационной работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Сбор проб прибрежных наносов осуществлялся на шести станциях (рис. 1а). При выборе мест расположения станций руководствовались тем, чтобы выбранные районы различались по интенсивности загрязнения, степени антропогенной нагрузки, удаленности от открытой части моря и гранулометрическому составу прибрежных наносов. Станции 1 и 2 расположены в бухте Севастопольская: ст. 1 – на южной стороне (район бывшего детского пляжа), ст. 2 – на северной стороне, в непосредственной близости от действующего причала. Ст. 3 – на побережье открытого моря (район пляжа Учкуевка). В бухте Круглая: ст. 4 – у выхода из бухты; ст. 5 – в районе вершины; ст. 6 – на западном побережье (территория детского

восстановителя в среду добавляли 3% раствор сернистого натрия. Количество денитрификаторов учитывали на среде Гильтая (Егоров, 1976), тионовых бактерий — на среде Сорокина (1962). Наиболее вероятное число микроорганизмов в единице объема рассчитывали по таблице Мак-Креди, основанной на методе вариационной статистики (Нетрусов, 2005).

Параллельно с количественным учётом микроорганизмов выделялись чистые и накопительные культуры бактерий. Морфологические, культуральные и физиолого-биохимические свойства микроорганизмов изучали согласно руководствам Н. С. Егорова (1976), Г.И. Каравайко (1972), А. И Нетрусова (2005).

Способность и интенсивность роста выделенных бактериальных культур на различных источниках углерода определяли посевом полученных чистых и накопительных культур бактерий на среду Диановой - Ворошиловой с последующим добавлением источников углерода (нефть, дизельное топливо (соляр), мазут) (Миронов и др., 1995).

Численность и динамику роста тионовой и денитрифицирующей групп бактерий в экспериментально созданных аэробных и анаэробных условиях изучали в лабораторных условиях. Продолжительность эксперимента составляла 4,5 мес.

Для изучения динамики численности бактерий в отсутствии гидродинамического воздействия в лабораторных условиях использовали непроточные аквариумы ($V - 0,17 \text{ м}^3$), в которые помещали образцы прибрежных наносов со ст. 1 и донных осадков, отобранных в центральной части акватории б. Севастопольской на глубине 14 м. В процессе эксперимента ежемесячно отбирали пробы из средней части прибрежных наносов, донных осадков и верхнего окисленного слоя донных осадков и определяли численность бактерий. Перед началом и после окончания эксперимента в исследуемом материале определяли концентрацию хлороформэкстрагируемых веществ (ХЭВ) весовым методом и нефтяных углеводов (НУ) методом инфракрасной спектрофотометрии. Определение ХЭВ и НУ проводились Т. В. Шадринной (ИНБЮМ).

ЧИСЛЕННОСТЬ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИХ, ТИОНОВЫХ И ДЕНИТРИФИЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ В ПРИБРЕЖНЫХ НАНОСАХ АКВАТОРИИ СЕВАСТОПОЛЯ

Бухта Севастопольская (Приморский бульвар) – ст. 1. Численность (кл./г) сульфатредуцирующих бактерий (СРБ) колебалась от 0,4 до 150; тионовых (ТБ) - от 45 до $9,5 \cdot 10^5$; денитрифицирующих (ДНБ) - от 45 до $2,5 \cdot 10^6$. В 80% положительных проб численность СРБ изменялась от 0,4 до 2 кл./г.

Количественные показатели тионовых бактерий в 57% проб составляли 10^3 - 10^5 кл./г, а ДНБ, соответственно, в 54% проб: 10^2 - 10^3 .

Бухта Севастопольская (Северная сторона) – ст. 2. Численность (кл./г) СРБ колебалась от 0,4 до 150; ТБ - от $2,5 \cdot 10^3$ до $9,5 \cdot 10^7$; ДНБ - от 250 до $2,5 \cdot 10^5$. В 50 % проб численность СРБ составляла от 25 и выше клеток на 1 г наносов, тионовых - в 65 % проб изменялась от 10^4 до 10^7 кл./г, а денитрифицирующих - в 77% проб колебалась от 10^3 до 10^4 кл./г.

Открытое побережье (пляж Учкеевка) – ст. 3. Численность (кл./г) СРБ колебалась от 0,4 до 45; ТБ - от 45 до $9,5 \cdot 10^5$; ДНБ - от 1 до $2,5 \cdot 10^5$. В 80% проб численность сульфатредуцирующих бактерий колебалось от 0,4 до 1,5 кл./г, а тионовых - от 10^2 до 10^4 кл./г. Количественные показатели денитрификаторов в 62 % проб составляли 10^2 - 10^4 кл./г.

Бухта Круглая (выход из бухты) – ст. 4. Численность (кл./г) СРБ колебалась от 0,4 до 250; ТБ - от 150 до $9,5 \cdot 10^6$; ДНБ - от 95 до $2,5 \cdot 10^7$. В 67% положительных проб численность СРБ изменялась от 0,4 до 3 кл./г, соответственно, ТБ - в 80% проб: 10^3 - 10^6 ; ДНБ - в 62% проб: 10^3 - 10^5 .

Бухта Круглая (вершина бухты) – ст. 5. Численность (кл./г) СРБ колебалась в широких пределах: от 1 до $9,5 \cdot 10^3$ кл./г; ТБ - от $1,5 \cdot 10^4$ до $3,0 \cdot 10^6$; ДНБ - от $1,5 \cdot 10^3$ до $9,5 \cdot 10^6$. В 64% проб количество сульфатредуцирующих бактерий составляло от десятков до тысяч клеток на 1 г наноса, тионовых бактерий - в 80% проб находилась в пределах 10^4 - 10^5 , а численность денитрифицирующих бактерий в 77% проб изменялась от 10^4 до 10^6 кл./г.

В бухте Севастопольской на ст. 1 рост сульфатредуцирующих бактерий зафиксирован в 34% проб, а на ст. 2 - в 69%. Возможно, близость действующего причала с неизбежным загрязнением прибрежных наносов нефтепродуктами является дополнительным источником органического вещества аллохтонного происхождения на ст. 2. По числу положительных проб район открытого моря (ст. 3) схож со ст. 4, переходной от открытого моря к закрытым районам, бактерии выделены, соответственно, в 50 и 46 % проб. В прибрежных наносах ст. 5 СРБ выявлены в 99% проб. Если для ст. 1, 3 и 4 характерна минимальная численность СРБ в прибрежных наносах, то показатели на ст. 5 превышают таковые остальных станций. По всей видимости, наличие заиленного песка и слабое действие волн в районе ст. 5 ограничивают кислородное снабжение прибрежных наносов и создают благоприятные условия для развития анаэробов.

Тионовые бактерии выделены в 100% проб. Относительно стабильное содержание ТБ наблюдалось только в прибрежных наносах ст. 5. Наименьшее содержание ТБ выявлено, как в прибрежных наносах бухты Севастопольской (ст. 1), так и в районе открытого моря (ст. 3). Максимальная численность ТБ определена на ст. 2, где отмечены наиболее высокие концентрации ХЭВ и НУ.

Денитрифицирующие бактерии выявлены в 100 % проб. Для прибрежных наносов ст. 1, 3 и 4 характерен широкий диапазон численности ДНБ. Относительно стабильное содержание ДНБ на ст. 2 можно связать с постоянно повышенным уровнем ХЭВ и НУ в прибрежных наносах. В районе вершины бухты Круглой (ст. 5) отмечено высокое содержание бактерий в течение периода исследования. Минимальная численность, определенная на ст. 5, превышает таковые показатели в прибрежных наносах остальных станций, в то же время максимумы на ст. 5 не выше аналогичных значений на ст. 1 и 4.

Количественный учет выделенных микроорганизмов показал превалирование численности тионовых бактерий, по сравнению с сульфатредуцирующими, причём аналогичное соотношение данных групп бактерий отмечалось и в донных осадках.

Высокие значения численности характерны для группы тионовых и денитрифицирующих бактерий, однако показатели численности ТБ на порядок выше и более стабильны, чем таковые ДНБ.

Анализ динамики численности тионовых и денитрифицирующих бактерий на ст. 2 за весь период исследований показал сравнительно однородный характер (рис. 2-3). Что касается СРБ, то существенное увеличение численности данной группы, начиная с мая 2006 г., может свидетельствовать об интенсификации анаэробных процессов в прибрежных наносах данных районов (рис.4).

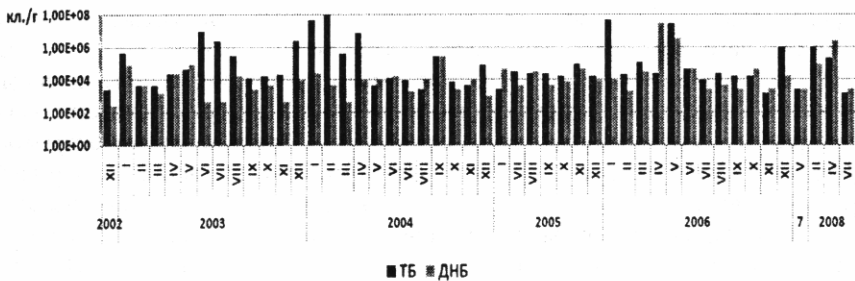


Рис. 2. Динамика численности тионовых и денитрифицирующих бактерий в прибрежных наносах бухты Севастопольской на ст. 2 с декабря 2002 по июль 2008 гг.

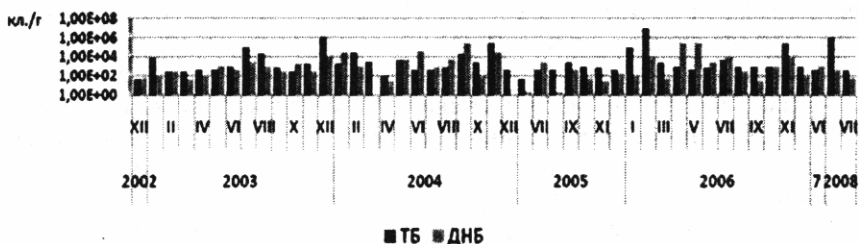


Рис. 3. Динамика численности тионовых и денитрифицирующих бактерий в прибрежных наносах пляжа Учкеевка на ст. 3 с декабря 2002 по июль 2008 гг.

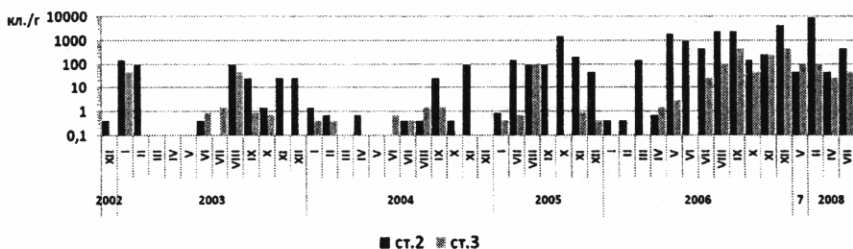


Рис. 4. Динамика численности сульфатредуцирующих бактерий в прибрежных наносах на ст. 2 и 3 с декабря 2002 по июль 2008 гг.

Следующий этап исследования состоял в изучении динамики численности анализируемых бактерий на ст. 2, 3 и 6, отличающихся по уровню антропогенной нагрузки. В частности, в прибрежных наносах ст. 2 определена наибольшая концентрация ХЭВ и НУ (ХЭВ – 108,2 мг/100 г; НУ – 28,6 мг/100 г), наименьшая – на ст. 3 (ХЭВ – 1,5 мг/100г; НУ – следы). На ст. 6 концентрация ХЭВ – 27,5 мг/100г; НУ– 6,5 мг/100 г (Кирюхина, 2004). Пробы со ст. 2 и 3 представляли, в основном, гравий с небольшой примесью обломков створок ракушки, в пробах со ст. 6 преобладала фракция песка. Известно (Миронов и др., 2004), что условия заиленного песка более благоприятны для развития анаэробов, чем гравийные отложения. В то же время анализ численности СРБ на ст. 2 и 6, различающихся по гранулометрическому составу, выявил, что большинство показателей на ст. 2, находились в пределах одного порядка или превышали таковые на ст. 6. В данном случае это объясняется повышенной концентрацией ХЭВ на ст. 2. Численность СРБ на ст. 2 и 6 превышала таковую на ст.3, с наименьшей концентрацией ХЭВ. На всех трех станциях верхняя граница диапазона численности тионовых бактерий совпадает. Однако большинство

показателей количественного состава ТБ на ст. 2 на порядок превышают показатели остальных двух станций. Количественные показатели ДНБ, полученные на ст. 2 и 6, превышают таковые на ст. 3. В то же время в прибрежных наносах на ст. 2 отмечено более стабильное содержание ДНБ, чем на остальных рассматриваемых станциях. Как и в предыдущих случаях, это можно объяснить высоким уровнем концентрации органики аллохтонного происхождения в грунте ст. 2.

За период наблюдений (с декабря 2002 по июль 2008 гг.) диапазон температуры составлял: воды от $+8^{\circ}$ до $+26^{\circ}$ С, воздуха от -1° до $+30^{\circ}$ С. Формирование как сравнительно высокой, так и низкой бактериальной численности происходило при широком диапазоне температурных значений.

Измерение окислительно-восстановительного потенциала (ОВП), проводимое в прибрежных наносах ст. 2 и 3 показало, что бактерии развивались при окислительных условиях среды (Eh: от $+30$ до $+480$). Как известно (Гусев, 1998), совместное развитие с облигатными аэробами, активно потребляющими кислород, приводит к образованию зон с низкой концентрацией последнего, что создает возможность для развития анаэробных видов. В прибрежных наносах открытого моря (ст. 3) корреляционная зависимость между значениями ОВП и численностью СРБ более выражена ($r = -0,75$), чем в бухте на ст. 2, где $r = -0,51$. Между величиной ОВП в прибрежных наносах и численностью, как ТБ, так и ДНБ взаимосвязи не обнаружено, что объяснимо различным отношением к кислороду наблюдаемых групп бактерий.

Результаты наших исследований показали, что волновое перемешивание, атмосферные осадки оказывают определённое влияние на численность указанных бактерий в прибрежных наносах, однако более существенным фактором является наличие органических соединений и процессов, приводящих к созданию анаэробных условий.

В целом, определив численность и особенности распределения сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий в прибрежных наносах акватории Севастополя, необходимо отметить, что количество данных микроорганизмов зависит не только от местоположения и гранулометрического состава прибрежных наносов, но и адекватно отражает уровень загрязнения органическими веществами аллохтонного и автохтонного происхождения.

СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИЕ, ТИОНОВЫЕ И ДЕНИТРИФИЦИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ В ДОННЫХ ОСАДКАХ СЕВАСТОПОЛЬСКИХ БУХТ И ПРИЛЕГАЮЩЕЙ АКВАТОРИИ

Бухта Севастопольская. В вершинной части бухты численность сульфатредуцирующих бактерий колебалась от 1 до 6 кл./г; тионовых – от

95 до 250 кл./г; денитрифицирующих – 25 кл./г. В центральной части и устье бухты, соответственно, СРБ - от 0,7 до 150 кл./г; ТБ - от 25 до 950 кл./г; ДНБ – от 0,4 до 25 кл./г. Донные осадки вершинной части бухты Артиллерийской характеризовались высоким содержанием бактерий: СРБ – $2,5 \cdot 10^3$ кл./г; ТБ – $9,5 \cdot 10^5$ кл./г; ДНБ – $1,5 \cdot 10^4$ кл./г. В бухте Южной колебания бактериальной численности составляли: СРБ - от 0,6 до 250 кл./г; ТБ - от 950 до $1,5 \cdot 10^4$ кл./г; ДНБ - от 45 до $1,5 \cdot 10^3$ кл./г.

Бухта Карантинная. Численность СРБ колебалась от 3,5 до 150 кл./г; ТБ - от 250 до 750 кл./г; ДНБ - от 250 до 450 кл./г.

Бухта Стрелецкая. Колебания численности СРБ составляли от 25 до 200 кл./г; ТБ – от 150 до $4,5 \cdot 10^3$ кл./г; ДНБ - от 25 до 450 кл./г.

Бухта Круглая. Численность СРБ в устье бухты изменялась от 0,6 до 25 кл./г; ТБ – от $9,5 \cdot 10^3$ до $4,5 \cdot 10^4$ кл./г; ДНБ – $2,5 \cdot 10^3$ кл./г. Количество сульфатредуцирующих бактерий на вершине бухты составляло $2 \cdot 10^3$ кл./г, тионовых – $1,5 \cdot 10^5$ кл./г, денитрифицирующих - 250 кл./г.

Бухта Камышовая. Численность СРБ колебалась от 0,6 до $9,5 \cdot 10^3$ кл./г; ТБ - от 450 до $20 \cdot 10^3$ кл./г; ДНБ - от 95 до $2,5 \cdot 10^3$ кл./г.

Бухта Казачья. Численность СРБ изменялась от 0,6 до 200 кл./г; ТБ – от 450 до $2,5 \cdot 10^4$ кл./г; ДНБ - от 45 до $2,5 \cdot 10^3$ кл./г.

Район открытого побережья (пляж Учкеевка). Количество СРБ составляло 150 кл./г, ТБ – $4,5 \cdot 10^3$ кл./г, а ДНБ - от 95 до 250 кл./г.

За период исследований выявлено повсеместное распространение сульфатредуцирующих бактерий. Установлено, что в донных осадках вершин бухт Артиллерийской, Круглой и Камышовой, подверженных значительной антропогенной нагрузке, наблюдаются стабильно высокие показатели численности СРБ (10^3). Наименьшие показатели (0-1,5 кл./г) определялись в районе внешнего рейда бухты Севастопольской, на остальных станциях отмечен широкий разброс в показателях численности (от 0,6 до $9,5 \cdot 10^3$ кл./г).

Тионовые бактерии в донных осадках выселяны в 100% проб, численность колебалась от 25 до $9,5 \cdot 10^5$ кл./г. Стабильно высокая концентрация ТБ (от $2,5 \cdot 10^3$ до $9,5 \cdot 10^5$ кл./г) наблюдалась на станциях в бухте Артиллерийской, Стрелецкой, Круглой, Казачьей и районе открытого побережья. Сравнительно низкие значения численности тионовых характерны для донных осадков вершинной части бухты Севастопольской.

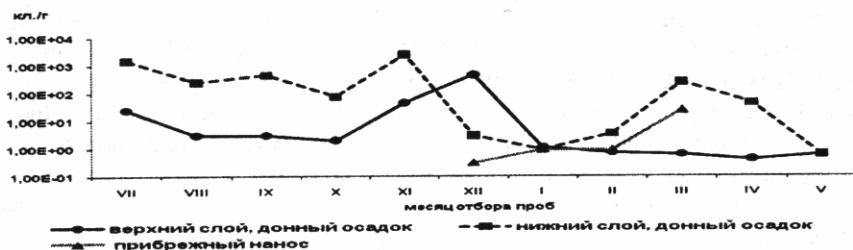
Денитрифицирующие бактерии выселяны в 100% проб, численность колебалась в широком диапазоне: от 0,4 до $15 \cdot 10^3$ кл./г. Стабильно высокая концентрация бактерий отмечена в вершинной части бухты Казачья. Наибольшая численность (10^3 - 10^4) выявлена в вершинной части бухт Артиллерийской, Камышовой и Казачьей, устье бухты Круглой. Наименьшая - в вершинной и центральной части б. Севастопольской.

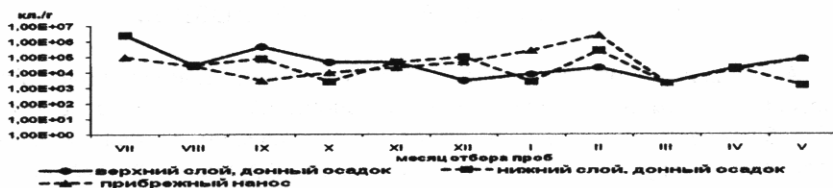
Следует отметить увеличение распространения СРБ и ДНБ в донных осадках региона Севастополя. Так, летом 1985 г. в акватории Севастополя СРБ были выделены только в 80% проб, отобранных в вершинах бухт и на станциях, расположенных у побережья, а ДНБ, соответственно, в 45% проб (Лебедь, 1988). Увеличение численности и распространения анализируемых групп бактерий в донных осадках указывает на создании в них восстановительных условий среды, в которых значительно замедляются процессы разложения органического вещества.

Исследуемые микроорганизмы выделены из донных осадков с различными показателями окислительно-восстановительного потенциала (ОВП), Eh: от + 356 до -189 (мВ) и с глубин от 1 до 20м (Кирюхина, 2004). На примере бухты Севастопольской проанализировано распределение микроорганизмов в зависимости от показателей ОВП, pH и глубины. Между величиной ОВП и численностью анализируемых бактерий выявлена отрицательная корреляционная зависимость. Коэффициент корреляции для СРБ составил $r = -0,5$; для ТБ и ДНБ, соответственно, $r = -0,47$ и $r = -0,51$. Достоверная зависимость между значениями pH среды и численностью наблюдаемых микроорганизмов не отмечена. Определено, что численность бактерий возрастает с уменьшением глубины (коэффициент корреляции для СРБ составил: $r = -0,57$; ТБ - $r = -0,48$; ДНБ - $r = -0,51$).

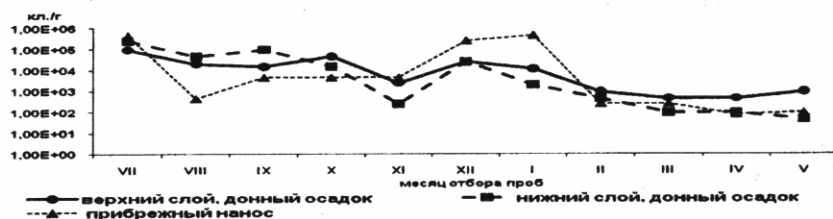
ФОРМИРОВАНИЕ АНАЭРОБНОГО МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА В ОТСУТСТВИИ ГИДРОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Формирование анаэробного микробного сообщества в прибрежных наносах и различных слоях донных осадков, в условиях исключаяющих волновое воздействие и приток свежего органического вещества, исследовали по Бурдину (1985).





В



С

Рис. 6. Динамика численности сульфатредуцирующих (а), тионовых (в) и денитрифицирующих (с) бактерий в эксперименте с июля 2003 по май 2004 гг.

Результаты эксперимента показали, что численность бактерий в прибрежных наносах (кл./г) колебалась: СРБ - от 0,3 до 25; ТБ - от $2 \cdot 10^3$ до $2,5 \cdot 10^6$; ДНБ - от 75 до $4,5 \cdot 10^5$. Соответственно, в поверхностном слое донных осадков: СРБ - от 0,4 до 450; ТБ - от $2 \cdot 10^3$ до $2,5 \cdot 10^6$; ДНБ - от $9,5 \cdot 10^2$ до $9,5 \cdot 10^4$; в нижнем слое осадков: СРБ - от 0,6 до $2,5 \cdot 10^3$; ТБ - от $1,5 \cdot 10^3$ до $2,5 \cdot 10^6$; ДНБ - от 45 до $2,5 \cdot 10^5$ (рис. 6).

Химический анализ образцов прибрежных наносов и донных осадков (табл. 1) показал, что в экспериментальных условиях протекают микробиологические процессы, приводящие к преобразованию НУ и ХЭВ.

Таблица 1

Концентрация ХЭВ, НУ (мг/100 г) в донных осадках и прибрежных наносах в начале и конце эксперимента

Донные осадки	ХЭВ	НУ	Прибрежные наносы	ХЭВ	НУ
Начало эксперимента	1180,0	920,0	Начало эксперимента	13,0	5,6
Окончание эксперимента	880,0	264,0	Окончание эксперимента	0,4	0,9

РОСТ ТИОНОВЫХ И ДЕНИТРИФИЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ В АНАЭРОБНЫХ И АЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ

Активный гидродинамический режим в зоне прибоя приводит к многократной смене и образованию в прибрежных наносах аэробных и анаэробных зон. Учитывая различия по отношению к молекулярному кислороду в группе тионовых и денитрифицирующих бактерий, был поставлен эксперимент по определению способности данных групп бактерий к росту в аэробных и анаэробных условиях. Для эксперимента отобрали пробы прибрежных наносов со ст. 2 и 6, различающихся по гранулометрическому составу и концентрации НУ.

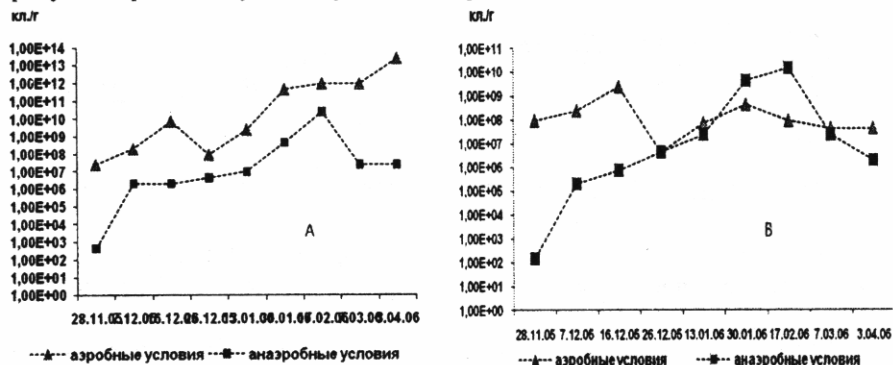


Рис. 7. Динамика численности тионовых бактерий из проб прибрежных наносов на ст. 2 (А) и ст.6 (В) в аэробных и анаэробных условиях

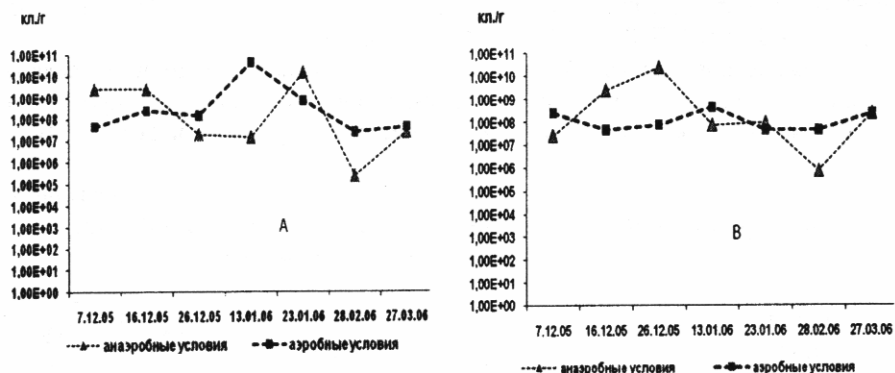


Рис. 8. Динамика численности денитрифицирующих бактерий из проб прибрежных наносов на ст. 2 (А) и ст.6 (В) в аэробных и анаэробных условиях

Результаты эксперимента показали (рис.7), что численность анаэробных и аэробных тионовых бактерий отличалась в основном на один - два порядка. В анаэробных условиях в пробах с обеих станций отмечено возрастание численности ТБ (с 10^2 до 10^7 кл./г).

Численность денитрифицирующих бактерий на протяжении эксперимента в аэробных условиях отличалась от их количества в анаэробных: в большинстве определений на один – два порядка (рис.8).

Таким образом, в прибрежных наносах с различным гранулометрическим составом и концентрацией НУ обитают представители групп тионовых и денитрифицирующих бактерий, приспособленные к развитию в условиях нестабильного кислородного режима.

УЧАСТИЕ СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИХ, ТИОНОВЫХ И ДЕНИТРИФИЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ В ПРОЦЕССАХ САМООЧИЩЕНИЯ МОРСКОЙ СРЕДЫ ОТ УГЛЕВОДОРОДОВ НЕФТИ

Для сравнения способности выделенной микрофлоры к росту на различных источниках углерода был проведен посев накопительных культур бактерий на среду Диановой-Ворошиловой с добавлением нефти, дизельного топлива (ДТ) и мазута.

Таблица 2

**Рост накопительных культур бактерий с различными источниками
углерода**

	СРБ			ТБ			ДНБ		
	Источник углерода								
	Нефть	ДТ	Мазут	Нефть	ДТ	Мазут	Нефть	ДТ	Мазут
Ст. 2 (прибрежные наносы)	+	+	+	+++	++	++	+++	+++	+++
Ст. 3 (прибрежные наносы)	+	+	+	+++	+	+	+++	+++	+++
Донные осадки (б.Арктический)	+	+	+	+++	+	+++	+++	+++	+++

Примечание: «+++» - обильный рост; «++» - умеренный; «+» - скудный; «+*» - наличие роста.

Из результатов определений видно (табл.2), что все микроорганизмы использовали углеводороды нефти в качестве единственного источника углерода и энергии.

Способность данных бактерий использовать нефть и её производные изучали исходя из обитания бактерий в прибрежных наносах, различных по уровню нефтяного загрязнения, поэтому отбор проб производили на ст. 2 и 3, расположенных, соответственно, в бухте и на открытом побережье. Из проб, отобранных на ст. 2, изолировано 27 штаммов тионовых бактерий, а на ст. 3 – 25 штаммов. Процентное содержание культур, участвующих в трансформации углеводов нефти на ст. 2 составило 78% - от общего количества культур, соответственно, на ст. 3 – 60%; рост на дизельном топливе отмечен у 63% культур ст. 2 и 48% культур ст. 3. Большая часть культур, изолированных из наносов ст. 2, активно росла на дизельном топливе (рис. 9). Станция расположена вблизи действующего катерного причала и, возможно, является более загрязненной дизельным топливом, как наиболее востребованным видом топлива для морских судов. Из прибрежных наносов на ст. 2 выделено 19 штаммов денитрифицирующих бактерий. Рост на нефти отмечен у 47 % от выделенных культур, на дизельном топливе - 42 %. Обильный рост на нефти и ДТ отмечен у равного количества культур со ст. 2 (рис. 10). На ст. 3 получено 11 штаммов ДНБ. Большинство культур, изолированных из проб ст. 3, было не способно к окислению дизельного топлива, только 36 % культур росло на данном источнике углеводорода. Рост на нефти отмечен у 64 % от выделенных культур. Культуры ст. 3 обильнее росли на нефти, чем на ДТ (рис.10).

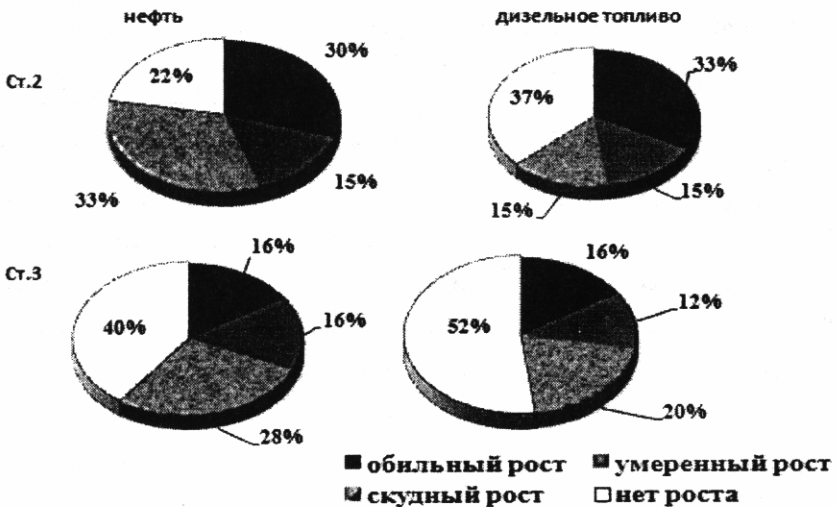


Рис. 9. Рост штаммов тионовых бактерий на различных источниках углерода

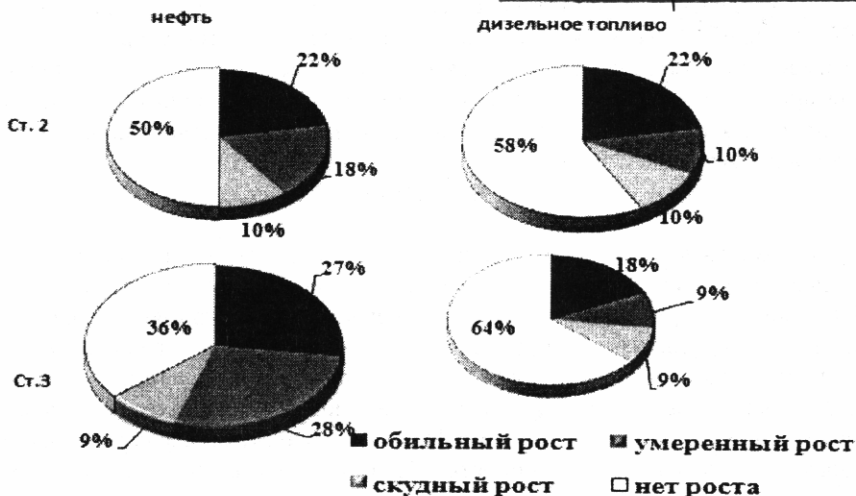


Рис. 10. Рост штаммов денитрифицирующих бактерий на различных источниках углерода

Обильный рост на исследуемом материале чаще отмечен у культур, выделенных на ст. 2, что, по всей видимости, вызвано большей адаптацией бактерий к повышенным концентрациям углеводов нефти на данной станции. Таким образом, только 69% культур ТБ и 47% культур ДНБ использовали нефть, ещё меньший процент от общего числа культур (58% ТБ и 37% ДНБ) – дизельное топливо. Данный факт следует учитывать при расчёте периодов микробного самоочищения прибрежных наносов от углеводов нефти.

Для оценки зависимости численности бактерий от уровня нефтяного загрязнения рассчитана корреляционная зависимость между численностью анализируемых бактерий и количеством НУ в донных осадках бухты Севастопольская, где исследованиями охвачено наибольшее количество станций. К тому же, донные участки в этой бухте различаются по концентрации НУ. Коэффициент корреляции для СРБ равен 0,75; для ТБ – $r = 0,83$; ДНБ – $r = -0,34$. Также проанализирована зависимость численности наблюдаемых бактерий от общего содержания НУ в прибрежных наносах на ст. 1-5. Анализ показал, что численность СРБ в прибрежных наносах с наибольшей концентрацией НУ (ст. 2 и 5) находилась в четко выраженных прямых связях с углеводородами нефти (соответственно, $r = 0,7$ и $0,82$). На станциях 1 и 3, где НУ представлены в следовых количествах – отсутствие, а на ст. 4 – слабopоложительная связь ($r = 0,44$). В отличие от СРБ, связи

между тионовыми и денитрифицирующими бактериями и концентрацией НУ в прибрежных наносах не наблюдалось. Отсутствие видимой взаимосвязи, возможно, объясняется тем, что не все виды микроорганизмов, обитающих в контактной зоне «суша-море» и относящиеся к данным группам бактерий, способны использовать НУ в качестве единственного источника углерода и энергии.

ВЫВОДЫ

1. Впервые получены данные о численности и особенностях распределения сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий в прибрежных наносах региона Севастополя. Колебания численности сульфатредуцирующих бактерий составляли от 0,4 до $9,5 \cdot 10^3$ кл./г, тионовых – от 45 до $9,5 \cdot 10^7$ кл./г, денитрифицирующих - от 1 до $2,5 \cdot 10^7$ кл./г. Названные группы бактерий повсеместно распространены в прибрежных наносах с различными физико-химическими характеристиками, однако наибольшая численность бактерий выявлена на станциях, подверженных сильной антропогенной нагрузке.

2. Охарактеризовано количественное содержание сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий в донных осадках бухт и участках открытого моря региона Севастополя. Численность сульфатредуцирующих бактерий колебалась от 0,6 до $9,5 \cdot 10^3$ кл./г, тионовых - от 25 до $9,5 \cdot 10^5$ кл./г, денитрифицирующих - от 0,4 до $1,5 \cdot 10^4$ кл./г. Названные бактерии распространены повсеместно, их численность подвержена широким колебаниям, вместе с тем на некоторых станциях наблюдается стабильный бактериологический режим.

3. Экспериментально показано, что в отсутствии гидродинамического воздействия в прибрежных наносах и донных осадках наиболее активно развиваются тионовые бактерии. Стабильное развитие денитрифицирующих бактерий выявлено только в течение 7 месяцев, далее происходит уменьшение их численности. Широкая вариабельность в количественных показателях характерна для сульфатредуцирующих бактерий. Изменение числа бактерий происходит на фоне значительного снижения концентраций нефтяных углеводородов, которое показывает, что при участии анализируемых групп бактерий протекают микробиологические процессы, приводящие к преобразованию нефтяных углеводородов.

4. Экспериментально установлено, что в прибрежных наносах с различным гранулометрическим составом и концентрацией ХЭВ и НУ обитают представители групп тионовых и денитрифицирующих бактерий, способные развиваться в условиях нестабильного кислородного режима. Этот факт необходимо учитывать при оценке участия этих групп бактерий в трансформации нефтяных углеводородов.

5. Накопительные культуры сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий, изолированные из прибрежных наносов и донных осадков способны использовать углеводороды нефти в качестве единственного источника углерода и энергии, что отражает участие этих групп микроорганизмов в биодеградации нефтяных углеводородов в прибрежной зоне.

6. Из прибрежных наносов выделено 52 штамма тионовых бактерий и 30 штаммов денитрифицирующих бактерий. Выделенные культуры способны использовать нефть и дизельное топливо в качестве единственного источника углерода и энергии. На углеводородах нефти росло 69 % штаммов тионовых и 47 % штаммов денитрифицирующих бактерий, рост на дизельном топливе отмечен у 58 % штаммов тионовых и 37 % денитрифицирующих.

7. Значимые положительные коэффициенты корреляции между численностью сульфатредуцирующих бактерий и содержанием нефтяных углеводородов в прибрежных наносах и донных осадках подтверждают участие сульфатредуцирующих бактерий в трансформации углеводородов нефтяного происхождения.

8. Численность тионовых бактерий в донных осадках и прибрежных наносах превышает таковую сульфатредуцирующих (от сотен до тысяч (кл./г)), что свидетельствует о наличии бактериального (тионового) фильтра, препятствующего проникновению сероводорода в близлежащие слои воды и грунта.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Бурдиян Н. В. Анаэробная микрофлора донных осадков Севастопольских бухт / Н. В. Бурдиян // Экология моря. – 2004. - Вып. 66. - С. 22-24.
2. Бурдиян Н. В. Тионовые, сульфатредуцирующие, денитрифицирующие бактерии в экспериментальных условиях / Н. В. Бурдиян // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. Спеціальний випуск "Гідроекологія" – 2005. - № 4 (27). – С. 31-32.
3. Бурдиян Н. В. Тионовые и сульфатредуцирующие бактерии в прибрежных наносах региона Севастополя (Чёрное море) / Н. В. Бурдиян, С. И. Рубцова, О. И. Беляева // Морск. экол. журн. - 2005. - Отд. Вып. № 1. - С. 7 - 12.
4. Рубцова С. И. Аэробно-анаэробные процессы самоочищения контактных зон «суша - море» в акватории Севастопольских бухт / С. И. Рубцова, Н. В. Бурдиян, О. И. Беляева // Учёные записки ТНУ, серия «Биология, химия». – Том 19 (58). № 1. 2006. – С. 161 – 169.

5. Бурдиян Н. В. Влияние некоторых абиотических факторов на закономерность распространения и численность сульфатредуцирующих и углеводородокисляющих бактерий в прибрежных наносах региона Севастополя (Черное море) / Н. В. Бурдиян, С. И. Рубцова // Проблемы устойчивого функционирования водных и наземных экосистем: материалы междунар. науч. конф. - Ростов-на-Дону, 2006. - С. 52 - 54.
6. Бурдиян Н. В. Экспериментальное изучение развития тионовых и денитрифицирующих бактерий в анаэробных и аэробных условиях / Н. В. Бурдиян // Экология моря. - 2007. - Вып. 73. - С. 24 - 27.
7. Бурдиян Н. В. Сульфатредуцирующая группа бактерий в прибрежных наносах бухты Круглой (Севастополь, Чёрное море) / Н. В. Бурдиян // Экология моря. - 2007. - Вып. 74. - С. 10 - 12.
8. Бурдиян Н. В. Способность бактерий тионовой группы использовать углеводороды нефти как единственный источник углерода и энергии / Н. В. Бурдиян // Экология моря - 2009. - Вып. 79. - С. 67-69.
9. Бурдиян Н. В. Сульфатредуцирующая микрофлора прибрежной акватории региона Севастополя (Чёрное море) / Н. В. Бурдиян // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. Спеціальний випуск "Гідроекологія" - 2010. - № 3 (44). - С. 34-38.
10. Бурдиян Н. В. Тионовые, денитрифицирующие, сульфатредуцирующие бактерии в прибрежных наносах региона Севастополя. / Н. В. Бурдиян // Фундаментальные исследования важнейших проблем естественных наук на основе интеграционных процессов в образовании и науке: межд. науч. конф.: тезисы докл. - Севастополь, 2006. - С. 123 - 124.
11. Бурдиян Н. В. Численность тионовой группы бактерий в экспериментальных и полевых условиях / Н. В. Бурдиян // «Водные экосистемы, организмы, инновации - 8»: тезисы докл. VIII межд. науч. конф. - Москва, 2006. - С. 12.
12. Бурдиян Н. В. Динамика численности тионовой группы бактерий в прибрежных наносах Севастопольской бухты (Чёрное море) / Н. В. Бурдиян // Современные проблемы гидробиологии. Перспективы, пути и методы решений, вторая межд. конф. 26- 29 августа 2008 г.: материалы второй межд. конф. - Херсон, 2008. - С. 82 - 83.
13. Санитарно-биологические исследования в прибрежной акватории региона Севастополя. / Под общ. ред. Миронова О. Г.: НАН Украины, ИнБЮМ, Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика. - 2009. - 192 с.
14. Бурдиян Н. В. Анаэробная микрофлора прибрежной акватории региона Севастополя (Чёрное море) / Н. В. Бурдиян // Биоразнообразие и устойчивое развитие: тезисы докладов межд. науч.- практ. конф., Симферополь, 19-22 мая 2010 г. - Симферополь, 2010. - С. 21-23.

АНОТАЦІЯ

Бурдіян Н.В. – Сульфатредукуючі, тіонові, денітрифікуючі бактерії в прибережній зоні Чорного моря і їхня роль у трансформації нафтових вуглеводнів. - Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.17 - гідробіологія. - Інститут біології південних морів НАН України, Севастополь, 2011.

Отримані дані про чисельність і особливості розподілу сульфатредукуючих, тіонових та денітрифікуючих бактерій в прибережних наносах і донних осадах акваторії Севастополя (Чорне море).

Встановлено, що досліджувані групи бактерій поширені повсюдно. В прибережних наносах коливання чисельності сульфатредукуючих бактерій становила від 0,4 до $9,5 \cdot 10^3$ кл./г; тіонових – від 45 до $9,5 \cdot 10^7$ кл./г; денітрифікуючих - від 1 до $2,5 \cdot 10^7$ кл./г. Чисельність сульфатредукуючих бактерій у донних осадах коливалася від 0,6 до $9,5 \cdot 10^3$ кл./г; тіонових - від 25 до $9,5 \cdot 10^5$ кл./г; денітрифікуючих - від 0,4 до $1,5 \cdot 10^4$ кл./г. Найбільша чисельність всіх груп бактерій виявлена в районах, які мали значне антропогенне навантаження. Кількість тіонових бактерій в прибережних наносах і донних осадах перевищує таку сульфатредукуючих від сотень до тисяч (кл./г).

В експериментальних умовах досліджено формування анаеробного угруповання при відсутності гідродинамічного впливу. Виявлено, що мікробіологічні процеси перетворення нафтових вуглеводнів відбуваються за участю аналізованих груп бактерій.

Встановлено, що в прибережних наносах з різним гранулометричним складом і концентрацією нафтових вуглеводнів живуть представники груп тіонових та денітрифікуючих бактерій, здатні розвиватися в умовах нестабільного кисневого режиму.

Визначена здатність накопичувальних культур сульфатредукуючих, тіонових та денітрифікуючих бактерій, ізольованих з прибережних наносів і донних осадків, використовувати вуглеводні нафти як єдине джерело вуглецю та енергії. Із прибережних наносів виділено 52 штами тіонових бактерій і 30 штамів денітрифікуючих бактерій. Від загальної кількості виділених штамів на вуглеводнях нафти росло 69% тіонових та 47% денітрифікуючих штамів; зростання на дизельному паливі відзначено у 58% тіонових та 37% денітрифікуючих штамів.

Розраховано кореляційну залежність між чисельністю аналізованих бактерій і концентрацією нафтових вуглеводнів у донних осадах і прибережних наносах.

Ключові слова: анаеробні бактерії, прибережні наноси, донні осади, нафта, Чорне море.

АННОТАЦИЯ

Бурдиян Н.В. – Сульфатредуцирующие, тионовые, денитрифицирующие бактерии в прибрежной зоне Чёрного моря и их роль в трансформации нефтяных углеводородов. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.17 – гидробиология. – Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, 2011.

Получены данные по численности и особенности распределения сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий в прибрежных наносах и донных осадках акватории Севастополя (Чёрное море).

Установлено, что исследуемые группы бактерий распространены повсеместно. В прибрежных наносах колебания численности сульфатредуцирующих бактерий составляли от 0,4 до $9,5 \cdot 10^3$ кл./г; тионовых – от 45 до $9,5 \cdot 10^7$ кл./г; денитрифицирующих - от 1 до $2,5 \cdot 10^7$ кл./г. Численность сульфатредуцирующих бактерий в донных осадках колебалась от 0,6 до $9,5 \cdot 10^3$ кл./г; тионовых - от 25 до $9,5 \cdot 10^5$ кл./г; денитрифицирующих - от 0,4 до $1,5 \cdot 10^4$ кл./г. Наибольшая численность всех групп бактерий выявлена в районах, подверженных значительной антропогенной нагрузке. Количество тионовых бактерий в прибрежных наносах и донных осадках превышает таковое сульфатредуцирующих от сотен до тысяч (кл./г).

В экспериментальных условиях исследовано формирование анаэробного сообщества при отсутствии гидродинамического воздействия. Выявлено, что микробиологические процессы преобразования нефтяных углеводородов протекают при участии анализируемых групп бактерий.

Установлено, что в прибрежных наносах с различным гранулометрическим составом и концентрацией нефтяных углеводородов обитают представители групп тионовых и денитрифицирующих бактерий, способные развиваться в условиях нестабильного кислородного режима.

Определена способность накопительных культур сульфатредуцирующих, тионовых и денитрифицирующих бактерий, изолированных из прибрежных наносов и донных осадков, использовать углеводороды нефти в качестве единственного источника углерода и энергии. Из прибрежных наносов выделено 52 штамма тионовых бактерий и 30 штаммов денитрифицирующих бактерий. На углеводородах нефти росло 69 % штаммов тионовых и 47 % штаммов денитрифицирующих бактерий; рост на дизельном топливе отмечен у 58 % штаммов тионовых и 37 % штаммов денитрифицирующих бактерий.

Рассчитана корреляционная зависимость между численностью анализируемых бактерий и концентрацией нефтяных углеводородов в донных осадках и прибрежных наносах.

Ключевые слова: анаэробные бактерии, прибрежные наносы, донные осадки, нефть, Чёрное море.

SUMMARY

Burdiyan N.V. – Sulfate-reducing, thiobacteria and denitrifying bacteria in the coastal zone of the Black Sea and their role in oil hydrocarbon transformation. – Manuscript.

Ph.D. Thesis (Biology, 03.00.17 – hydrobiology). – The A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, National Academy of Sciences of Ukraine, Sevastopol, 2011.

The abundance and distribution of sulfate-reducing, thiobacteria and denitrifying bacteria inhabiting coastal and sea-bed sediments of Sevastopol (Black Sea) were investigated.

The general presence of the examined bacterial groups has been proven. In the coastal sediments the abundance of sulfate-reducing, thiobacteria and denitrifying bacteria varied from 0.4 to $9.5 \cdot 10^3$, 45 to $9.5 \cdot 10^7$ and 1 to $2.5 \cdot 10^7$ cell/g, respectively; and in the bottom substrates from 0.6 to $9.5 \cdot 10^3$, 26 to $9.5 \cdot 10^5$ and 0.4 to $1.5 \cdot 10^4$ cell/g, respectively. Each bacterial group developed largest abundance in the localities receiving heavy human loads; thiobacteria outnumbered sulfate-reducing by hundreds to thousands cells/g.

Experiments were conducted to find out how the anaerobic community would form in the absence of hydrodynamic load. It was found that the three investigated bacterial groups are involved in microbial conversion of oil hydrocarbons.

The study has shown that the coastal sediments which differ in granulometric composition and in oil hydrocarbon concentrations harbor some thiobacteria and denitrifying bacteria tolerant to changeable oxygen regime.

The capacity to utilize oil hydrocarbons as the only carbon and energy supply was tested in continuous cultures of the sulfate-reducing, thiobacteria and denitrifying bacteria isolated from the coastal and sea-floor sediments. 52 thiobacteria and 30 denitrifying bacterial strains were isolated from the near-shore substrate, of which 69 and 47%, respectively, grew on oil hydrocarbons and 58 and 37%, respectively, on diesel oil.

Correlation between bacterial abundances and oil hydrocarbon concentrations measured in the sea-bed and coastal sediments was computed.

Key words: anaerobic bacteria, coastal and sea-bed sediments, oil, Black Sea.

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
им. А.О. КОВАЛЕВСКОГО

**БУРДИАН
НАТАЛИЯ ВИТАЛЬЕВНА**

**СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИЕ, ТИОНОВЫЕ,
ДЕНИТРИФИЦИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ В ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЕ
ЧЁРНОГО МОРЕЯ И ИХ РОЛЬ В ТРАНСФОРМАЦИИ НЕФТЯНЫХ
УГЛЕВОДОДОВ**

03.00.17-гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание научной степени
кандидата биологических наук

Подписано в печать 02.08.2011.
Печать офсетная. Формат 60×84¹/₁₆.
Печ. л. 3,25. Уч.-изд. л. 1,5
Заказ 39. Тираж 100 экз.

Отпечатано НПЦ «ЭКОСИ-Гидрофизика»,
99011, г. Севастополь, ул. Ленина, 28
Свидетельство о государственной регистрации
Серия ДК № 914 от 16.02.02 г.