

ЭКОЛОГИЯ МОРЕЯ

1871



ИНБЮМ

38

1991

скорее всего указывает на прогрессирующее образование анаэробных условий, ухудшение среды обитания. Однако все увеличивающееся загрязнение донных осадков бухт ведет к процессам сукцессии, когда изучаемые группы микроорганизмов могут быть вытеснены другими группами бактерий, возможно, аллохтонного происхождения.

1. Крисс А. Е. Морская микробиология (глубоководная). — М.: Изд-во АН СССР, 1959. — 452 с.
2. Лебедь А. А. Микробиологическая характеристика донных осадков западного шельфа Черного моря // Экология моря. — 1987. — Вып. 26. — С. 48—50.
3. Миловидова Н. Ю., Кирюхина Л. Н. Черноморский макрозообентос в санитарно-биологическом аспекте. — Киев: Наук. думка, 1985. — 101 с.
4. Миронов О. Г., Кирюхина Л. Н., Кучеренко М. И., Тархова Э. П. Самоочищение в прибрежной акватории Черного моря. — Киев: Наук. думка, 1975. — 142 с.
5. Миронов О. Г. Биодеградиация нефти в морской среде // Человек и биосфера. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1983. — С. 110—129.
6. Романенко В. И., Кузнецов С. И. Экология микроорганизмов пресных водоемов. — Л.: Наука, 1974. — 194 с.
7. Сорокин Ю. И. Микрофлора грунтов Черного моря // Микробиология. — 1962. — 31, вып. 5. — С. 899—904.
8. Сорокин Ю. И. Черное море: природа, ресурсы. — М.: Наука, 1982. — 216 с.

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

Получено 31.07.89

A. A. LEBED, L. N. KIRYUKHINA

BACTERIOBENTHOS OF THE SEVASTOPOL BAYS

Summary

The conducted microbiological studies of the bottom sediments of the Sevastopol bays have shown that the amount of all the studied groups of microorganisms decreased as compared with 1985. The number of samples with negative redox potential and of those containing sulphate-reducing and denitrifying bacteria has increased. All this evidences for the worsening of the microorganisms habitat.

УДК 57.083.134:579.68(26)

Н. В. КОВАЛЕВА, Л. Е. НИЖЕГОРОДОВА

АНАЛИЗ СОСТАВА ГЕТЕРОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ ОДЕССКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА РАЗЛИЧНЫХ СРЕДАХ С УЧЕТОМ ВОЗДЕЙСТВИЯ ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ

Проведен анализ количественного и качественного состава гетеротрофных бактерий при исследовании микрофлоры морских вод Одесского побережья. Установлено, что наиболее подходящей для косвенного подсчета гетеротрофов в морской воде с соленостью 14—18‰ является среда Горбенко, а при солености 6—13‰ — среда РПА. Применение одной из сред для индикации сапрофитной микрофлоры Одесского залива ведет к занижению показателей, характеризующих процессы самоочищения и санитарный режим акватории. Выделены две специфические группы микроорганизмов, развивающихся в Одесском заливе при солености 14—18 и 6—13‰. Установлена закономерность изменения соотношения численности бактерий этих групп в море в зависимости от солености воды.

Гетеротрофная микрофлора является наиболее активным участником и весьма ценным показателем процесса разложения органических веществ в море. Однако результаты исследования гетеротрофных бактерий во многом обусловлены выбором питательных сред, на которых развивается сотая или тысячная часть микроорганизмов, населяющих водоемы [3, 7]. Для более полного учета гетеротрофных бактерий ряд исследователей использовали среды различного состава [1, 9, 11]. Наиболее часто в морской микробиологии, так же как в санитарно-микро-

© Н. В. Ковалева, Л. Е. Нижегородова, 1991

биологической практике, применяется среда РПА, содержащая 60% триптического гидролизата рыбной муки и 40% агар-агара. В то же время Ю. А. Горбенко [1] разработал среду, на которой при исследовании морских вод образуется значительно больше колоний, чем на среде РПА. Указанные исследования не учитывают особенностей прибрежного района моря как контактной зоны, где на морскую биоту оказывает интенсивное воздействие антропогенный фактор. Естественно возникает вопрос: какие среды необходимо использовать в данных условиях, чтобы получить наиболее полную картину состава гетеротрофной микрофлоры? Цель настоящего исследования — сравнительный анализ количественного и качественного состава гетеротрофных бактерий, растущих на различных питательных средах, с учетом гидрологического режима Одесского залива.

Материал и методика. Исследования проводились в районе Одесского побережья, где происходят резкие изменения условий среды. Одной из наиболее характерных черт гидрологического режима акватории является его зависимость от влияния сгонно-нагонных ветров. Ветры северо-восточных румбов нагоняют днепровскую воду, тем самым способствуют опреснению вод до 6‰. Ветры западных румбов вызывают сгон, и тогда соленость повышается до 18,5‰, а температура в летний период снижается с 23—25 до 7—10°C.

Нами использованы три среды различного состава для учета сапрофитных бактерий. Это широко используемая в практике бактериологических исследований среда РПА и среда, разработанная Ю. А. Горбенко [1]. Он предложил обычный мясо-пептонный агар разводить водой в соотношении 1 : 10 (РПА : 10), а для затвердевания добавлять 1,5% агар-агара. Учет численности гетеротрофных бактерий на этих средах проводили методом прямого посева на поверхность агара. Кроме твердых сред, нами применялся также мясо-пептонный бульон для выявления титра гетеротрофных бактерий посредством последовательных разведений [6]. Параллельно с гетеротрофными бактериями контролировали общую численность микроорганизмов (по методу Разумова [5]), температуру и соленость воды. Исследования проводились в течение 1982—1983 гг. на двух стационарных пунктах в Одесском заливе и на разрезах, состоящих из 4—8 станций, расположенных вдоль побережья.

Результаты исследования. За период исследований диапазон изменения температуры воды составил 1—22°C. Ширина этого диапазона позволила на основании температурного критерия выделить два периода года: холодноводный (температура воды 0—12°C) и тепловодный (температура воды 13—22°C) [2], в пределах которых проводился анализ данных. Соленость воды колебалась от 6,9 до 17‰. Общая численность бактерий в холодноводный период изменялась в пределах $416 \cdot 10^3$ — $1320 \cdot 10^3$ кл.мл⁻¹, что не превышало уровня мезотрофных вод. В тепловодный период плотность микроорганизмов характеризовала качество вод как евтрофное ($1500 \cdot 10^3$ кл.мл⁻¹).

Число гетеротрофных бактерий колебалось от 40 до 110000 кл.мл⁻¹ в холодноводный период и от 280 до 48000000 кл.мл⁻¹ — в тепловодный. При исследовании количественного состава гетеротрофных бактерий возникла проблема, заключающаяся в неравномерном распределении этих микроорганизмов. Во время одномоментных съемок в Одесском заливе разность численности гетеротрофных бактерий достигала двух порядков (табл. 1—3). Рассчитанные коэффициенты вариации составили 88—113% и были в 3—4 раза больше, чем для общего количества бактерий. При этом количество колоний на питательных средах разного состава было неодинаковым и отличалось на порядок величин и более. Большое расхождение в количестве бактерий, учитываемых на различных средах, свидетельствует об избирательности роста микроорганизмов. Их адаптация к тем или другим условиям развития служит одной из причин неравномерности распределения гетеротрофов

Таблица 1. Распределение солености (‰) и численности бактериопланктона (10^4 кл. мл⁻¹) в Одесском заливе 24. VIII. 1983 г.

Показатель	Пункты наблюдения							Кoeffициент вариации
	1	2	3	4	5	6	7	
Соленость	14,6	14,7	14,9	14,5	13,7	13,8	14,6	3
Общая численность	290	488	340	345	326	296	234	24
Гетеротрофы:								
на среде РПА	78	11	37	6	41	20	8	88
на среде Горбенко	130	14	132	7	32	25	7	113
Соотношение РПА	1	1	1	1	1,3	1	1	
Горбенко	1,6	1,3	3,5	1	1	1,2	1	

Примечание. Здесь и в табл. 3 1—5 — пункты наблюдения, расположенные в непосредственной близости от берега, 6, 7 — пункты в открытой части залива на расстоянии 2-х миль от берега.

при косвенном подсчете, что говорит о зависимости избирательного роста гетеротрофов от условий внешней среды.

Исследования у Одесского побережья показали, что при солености 14,1—18,0‰ численное преимущество получали гетеротрофные бактерии, растущие на среде Горбенко (табл. 4). Количество бактерий, выросших в тепловодный период на этой среде, по отношению к общему количеству микроорганизмов составило 43%. Эта величина в 2 раза превышает количество бактерий, выросших в аналогичных условиях на среде РПА (20%). В условиях низкой солености (6—14‰) наблюдалось обратное соотношение. Количество бактерий, выросших на среде РПА, было больше, чем на выросших на среде Горбенко. По отношению к общему количеству микроорганизмов их численность в тепловодный период составила соответственно 0,4—0,1%. В холодноводный период при той же закономерности распределения бактерий на средах, что и в тепловодный период, процент их выявления по отношению к общей численности микроорганизмов оказался очень низким (0,1—0,5%). Наиболее высокая численность гетеротрофов зимой получена на пептонном бульоне (8,5% общего количества).

В целом же ни одна из трех сред не является оптимальной для определения количества гетеротрофных микроорганизмов во всех исследованных условиях. Наиболее подходящей для косвенного подсчета гетеротрофов в морской воде с соленостью 14—18‰ является среда Горбенко. Среда РПА дает более высокие значения численности гетеротрофов в условиях низкой солености (6—14‰).

Изменения соотношения гетеротрофных бактерий на различных средах в зависимости от солености воды прослежены нами как во временных рядах наблюдений, так и при одномоментных съемках. Наиболее ярко это явление отражено в результатах съемки 25 мая (табл. 2), когда исследованиями был охвачен район Днепро-Бугского лимана (А). Здесь была зарегистрирована минимальная соленость (6,5‰) и соответственно максимальное доминирование (в 20 раз) бактерий на среде РПА. По мере удаления от приднепровской зоны

Таблица 2. Распределение солености (‰) и численности гетеротрофных бактерий (кл. мл⁻¹) на Одесском побережье 25. V. 1983 г.

Показатель	Пункты наблюдения		
	А	Одесский залив	Б
Соленость	6,5	11,1	11,0
Гетеротрофы:			
на среде РПА	5000	1000	500
на среде Горбенко	240	280	138
Соотношение РПА	20	3,5	3,6
Горбенко	1	1	1

**Таблица 3. Распределение солености (‰) и численности
гетеротрофных бактерий (10^3 кл·мл⁻¹) в Одесском заливе 31.VIII. 1983 г.**

Показатель	Пункты наблюдения				
	1	2	3	4	5
Соленость	14,8	15,1	15,4	15,4	15,6
Гетеротрофы:					
на среде РПА	465	95	45	60	35
на среде Горбенко	630	158	170	207	140
Соотношение РПА	1	1	1	1	1
Горбенко	1,3	1,6	3,8	3,4	4

соленость возрастала, а соотношение бактерий выравнивалось, достигая почти равновесного состояния в пункте Б.

По результатам съемки 31 августа (табл. 3) при солености 14,8—15,6‰ четко прослеживается преобладание бактерий на среде Горбенко, которая обеднена органическим веществом по сравнению со средой РПА.

Все эти наблюдения дают основание предполагать существование в водах Одесского побережья двух крупных группировок микроорганизмов, первая из которых требует для своего развития минимального содержания органического вещества и солености воды 14—18‰, вторая предпочитает пресные воды и большое количество органического вещества. Микроорганизмы пресных вод, по-видимому, адаптировались к более высоким концентрациям органического вещества, в результате чего могут осуществлять те или другие энзиматические реакции в более широком диапазоне по сравнению с бактериями морской воды.

Исходя из проявившихся экологических особенностей гетеротрофных микроорганизмов, первая группа бактерий была условно названа нами «автохтонной», а вторая — «аллохтонной». При этом соленость, как мы полагаем, является показателем, указывающим на активность той или другой группы в микробном сообществе. Руководствуясь этим положением, мы расположили коэффициенты соотношения числа бактерий, выросших на средах РПА и Горбенко, в соответствующих им градациях солености и, вычислив среднюю величину, получили шкалу изменений численности «автохтонных» и «аллохтонных» микроорганизмов в зависимости от солености воды (табл. 5). Средние величины соотношений указывают на довольно плавный переход от численного преимущества (в 16 раз) «аллохтонных» бактерий при солености 6—8‰ к доминированию (в 20 раз) «автохтонных» микроорганизмов при солености 16—17‰. Эти результаты могут быть использованы для прогноза численности гетеротрофных сапрофитных бактерий «аллохтонного» или «автохтонного» происхождения в водах Одесского побережья.

Установленная связь сапрофитной микрофлоры и солености позволила объяснить некоторые закономерности сезонных изменений числа «автохтонных» и «аллохтонных» бактерий в водах Одесского залива. Так, в холодноводный период (с января по апрель) отмечалось доминирование группы «автохтонных» бактерий (2200 кл·мл⁻¹) над «алло-

Таблица 4. Содержание гетеротрофных бактерий по отношению к общему числу микроорганизмов при различных условиях культивирования и обитания, %

Соленость, ‰	Период					
	холодноводный			тепловодный		
	пептонный бульон	РПА	среда Горбенко	пептонный бульон	РПА	среда Горбенко
6,0—14	8,5	0,2	0,1	4,7	0,4	0,1
14,1—18	1,4	0,1	0,5	2,9	20,0	43,0

Таблица 5. Шкала изменения соотношения численности «автохтонных» и «аллохтонных» микроорганизмов в Одесском заливе в зависимости от солености воды

Микроорга- низмы	Соленость, ‰						
	6—8	8,1—10	10,1—12	14,1—15	14,1—15	15,1—16	16,1—17
«Аллохтонные»	16	9	3	2	1	1	1
«Автохтонные»	1	1	1	1	3	16	20

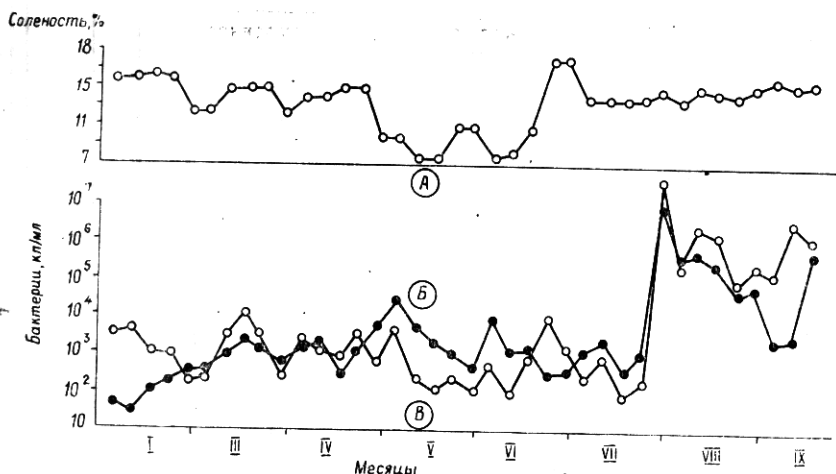
хтонными» ($620 \text{ кл} \cdot \text{мл}^{-1}$), что вполне согласовывалось с гидрологической ситуацией. Соленость воды в это время была выше среднегодовых значений и способствовала развитию собственно морской микрофлоры (рисунок).

В начале тепловодного периода (май — июнь) начинает доминировать группа «аллохтонных» бактерий ($2900 \text{ кл} \cdot \text{мл}^{-1}$), достигающая численного превосходства над «автохтонной» микрофлорой ($840 \text{ кл} \cdot \text{мл}^{-1}$) на порядок величин. Содержание большого числа «аллохтонных» микроорганизмов в весенний период, без сомнения, связано с речным паводком, влияние которого на исследованную акваторию в этот период выражалось в опреснении воды до $6,9—9,2 \text{ ‰}$. В июле—сентябре при солености $14,1—15,7 \text{ ‰}$ численное преимущество в основном принадлежало группе «автохтонных» бактерий, но периодически превосходство получали бактерии из «аллохтонной» группы, что может быть связано с воздействием локальных антропогенных факторов.

Изучение морфологических и биохимических свойств выделенных культур «автохтонных» и «аллохтонных» микроорганизмов позволило отнести их к 6 общим семействам: *Pseudomonadaceae*, *Peptococcaceae*, *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Bacillaceae*, *Vibrionaceae*. Однако дальнейшая идентификация показала некоторое отличие набора таксонов в установленных нами группах. Так, «автохтонные» бактерии представлены 17 родами, а «аллохтонные» — 15. При этом в группе «автохтонных» микроорганизмов выявлено шесть таксонов (*Acetobacter*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Actinobacillus*, *Planococcus*, *Staphylococcus*), которые отсутствовали среди «аллохтонных» бактерий. В свою очередь, в группе «аллохтонных» бактерий специфическими оказались представители четырех родов: *Photobacterium*, *Pediosoccus*, *Aerococcus*, *Erysipelothrix*. Грамотрицательные бактерии в группе «автохтонных» микроорганизмов составили 42%, а в группе «аллохтонных» — лишь 4,5%. Большая пропорция грамотрицательных организмов, по мнению авторов [4, 10], является важной чертой, определяющей морскую микрофлору.

В исследованной группе «аллохтонных» микроорганизмов подавляющее преимущество имели грамположительные бактерии (95,4%) с явным доминированием рода *Micrococcus* (52,6%). После кокковых форм вторым по массовости следует род *Bacillus* (25,5%). В исследованиях А. В. Цыбань [8] спорообразующие палочки, так же как кокки, чаще встречались в устьевых районах и очень редко — в открытых акваториях моря. Таким образом, массовое содержание «аллохтонной» микрофлоры в воде Одесского залива можно объяснить влиянием речного стока.

Закключение. Изучено влияние состава среды на численность и распределение гетеротрофных бактерий при исследовании микрофлоры морской воды Одесского побережья. Установлено, что наиболее подходящей для косвенного подсчета гетеротрофов в морской воде с соленостью $14—18 \text{ ‰}$ является среда Горбенко, а при солености $6—13 \text{ ‰}$ — среда РПА. Применение только одной из сред для индикации сапрофитной микрофлоры Одесского залива ведет к занижению показателей, характеризующих процессы самоочищения и санитарный режим акватории. Выделены две специфические группы микроорганизмов, развивающиеся в Одесском заливе в интервале солености $14—18 \text{ ‰}$ и $6—13 \text{ ‰}$. Установлена закономерность изменения соотношения численности бактерий этих групп в море в зависимости от солености воды.



Сезонная динамика солености (А), «автохтонных» (Б) и «аллохтонных» (В) гетеротрофных бактерий в Одесском заливе

Полученные результаты могут быть использованы для прогноза численности гетеротрофных сапрофитных бактерий «аллохтонного» или «автохтонного» происхождения в водах Одесского залива при изучении прибрежных районов моря, подверженных влиянию стока рек или выпускам хозяйственно-бытовых стоков.

1. Горбенко Ю. А. О наиболее благоприятном количестве сухого питательного агара в средах для культивирования морских гетеротрофных микроорганизмов // Микробиология. — 1961. — 30, вып. 1. — С. 168—172.
2. Ковалева Н. В., Александров Б. Г. Анализ численности бактерио- и зоопланктона как составная часть мониторинга прибрежной зоны моря / Одес. отд-ние Ин-та биологии юж. морей им. А. О. Ковалевского АН УССР. — Одесса, 1987. — 14 с. — Деп. в ВИНТИ 11.03.87, № 1776—В 87.
3. Крисс А. Е. Морская микробиология (глубоководная). — М.: Изд-во АН СССР, 1959. — 454 с.
4. Мишустина И. Е. Экологический аспект в изучении таксономического положения морских микроорганизмов // Успехи микробиологии. — 1978. — № 13. — С. 106—116.
5. Разумов А. С. Прямой метод учета бактерий в воде. Сравнение его с методом Коха // Микробиология. — 1932. — 1, вып. 2. — С. 131—146.
6. Руководство по методам биологического анализа морской воды и донных отложений / Под ред. А. В. Цыбань. — Л.: Гидрометеоиздат, 1977. — 192 с.
7. Симицзу У. Современное состояние морской микробиологии в Японии // Успехи микробиологии. — 1983. — 18. — С. 133—143.
8. Цыбань А. В. Бактериопланктон и бактериопланктон шельфовой области Черного моря. — Киев: Наук. думка, 1970. — 276 с.
9. Наумова С. М. Сравнительно изследоване на хранителни среды за определяне броя на микроорганизмите в природни води // Хидробиология. — 1983. — № 18. — С. 44—53.
10. Ishida Yuzaburo. Физиологические характеристики морских бактерий // Кайё какаку. — Mar. Sci. Mon. — 1973. — 5, N 9. — P. 19—23.
11. Väänänen P. Effects of composition of substrate and inoculation technique on plate counts of bacteria in the Northern Baltic sea // J. Appl. Bacteriol. — 1977. — 42, N 3. — P. 437—443.

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

Получено 01.09.89

N. V. KOVALYOVA, L. E. NIZHEGORODOVA

ANALYSIS OF THE COMPOSITION OF HETEROTROPHIC BACTERIA OF THE ODESSA COASTLINE AFTER CULTIVATION ON DIFFERENT MEDIA UNDER THE INFLUENCE OF EXTERNAL FACTORS

Summary

The effect of the composition of the medium on the number and distribution of heterotrophic bacteria when studying the microflora of the sea near the Odessa coastline has been investigated. It has been established, that the Gorbenco medium is the best

for indirect counting of heterotrophic bacteria in the sea water at a salinity of 14—18‰ and the RPA medium at salinity of 6—13‰. Two specific groups of microorganisms developing in the Odessa Bay in the salinity range of 6—13‰ and 14—18‰ have been distinguished. The law governing the changes in the ratio of the number of bacteria of these groups in the sea depending on water salinity has been established. The results obtained may be employed for prediction of the number of heterotrophic-saprophyte bacteria of allochthonous and autochthonous origin in the Odessa Bay.

УДК 591.524.124:591.13:551.465.8(262.5)

Г. А. ФИНЕНКО, З. А. РОМАНОВА

ПИТАНИЕ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ ЧЕРНОМОРСКОГО ВЕСЛОНОГО РАЧКА *ACARTIA CLAUSI* GIESBR. НА ДЕТРИТЕ

Исследовано потребление детрита макрофитов и одноклеточных водорослей разного срока разложения (2; 5; 10; 30 и 40 сут) веслоногим рачком *A. clausi*. Установлено, что только при питании молодым (2-дневным) детритом рачки могут удовлетворить минимальные пищевые потребности. Потребление более старого детрита может лишь частично компенсировать затраты энергии животных на дыхание.

Исследования в различных районах морей и океанов потребностей морских планктонных ракообразных в продукции фитопланктона показали, что фитопланктон не может быть для них единственным источником энергии в течение всего года. В качестве другого возможного пищевого источника многие авторы рассматривают мертвое органическое вещество, большой запас которого в море, его химический и размерный состав дают основание для такого предположения [2, 7, 10, 11]. Полевые наблюдения не дают необходимой информации о количестве и степени удовлетворения пищевых потребностей при использовании животными мертвой органической взвеси. Только дополненные результатами эколого-физиологических экспериментов, они позволят судить о роли детрита в трофодинамике морских планктонных сообществ.

Прямые наблюдения и эксперименты по потреблению детрита морскими планктонными животными до сих пор немногочисленны и противоречивы. Различные, часто противоположные результаты определяются особенностями использованного в опытах детрита: его происхождением (зоо- или фитогенный детрит, детрит макрофитов или одноклеточных водорослей), возрастом, степенью разложения и др. Методическая сторона экспериментов также недостаточно разработана. Кратковременные наблюдения, в которых продолжительность питания животных измеряется часами, а иногда минутами, позволяют оценить скорость потребления детрита, но не достаточны для суждения о его пищевой ценности. Только в совокупности с наблюдениями по выживаемости, росту, плодовитости они могут дать объективную оценку возможности использования животными детрита как пищевого источника. Для таких исследований требуется длительное содержание морских планктонных организмов в лабораторных условиях, а также поддержание детритных частиц во взвеси, что связано с определенными трудностями и требует специальных методических разработок.

Цель настоящей работы — оценить интенсивность питания черноморского рачка *Acartia clausi* и его выживаемость на детрите разного происхождения (детрит макрофитов и одноклеточных водорослей) и возраста.

Материал и методика. Опыты проводили во время 27-го рейса НИС «Профессор Водяницкий» в Черном море в июле — августе 1988 г. Использовали детрит макрофитов *Ulva rigida* разного срока разложения