

ЭКОЛОГИЯ МОРЯ



26

1987

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЗАГРЯЗНЕНИЯ И САМООЧИЩЕНИЯ МОРЯ

УДК 577.472(26):576.809.56

Э. А. ЧЕПУРНОВА, Н. А. ЖАРОВ

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ОЦЕНКЕ САМООЧИЩАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ МОРСКИХ ВОД

Бактерии являются одним из важнейших компонентов морских экосистем. В процессе роста бактериальной популяции утилизируется большая часть энергии, поступающей в водные экосистемы с авто- и аллохтонным органическим веществом. Известно, что пищевые потребности бактерии удовлетворяются прежде всего за счет нестойкого органического вещества, концентрация которого в настоящее время заметно возрастает в водоемах за счет увеличивающихся сбросов хозяйственно-бытовых отходов. Остро стоит вопрос об изучении способности природных экосистем к преодолению подобного рода нагрузок. Возникает необходимость в изучении самоочищающей способности экологических систем, при оценке которой данные об интенсивности процессов бактериальной деятельности представляют особый интерес.

Процесс роста бактерий характеризуют две основные величины: наличная биомасса клеток (x) на данный момент времени (плотность популяции) и удельная скорость роста клеток (μ) как показатель интенсивности нарастания биомассы. Оба показателя довольно изменчивы и находятся в прямой зависимости от полноценности среды обитания, а также взаимозависимы друг от друга. Обычно увеличение плотности популяции бактерий приводит к истощению питательных компонентов среды и накоплению продуктов жизнедеятельности клеток, что в свою очередь снижает удельную скорость роста клеток [3]. В простейшем случае усиление действия неблагоприятных факторов в зависимости от плотности является линейным. О таком простом, или «идеальном», росте говорят, что он является логистическим или удовлетворяет логистическому уравнению [7]:

$$\frac{dx}{dt} = \mu_{\max} x \left(\frac{x_m - x}{x_m} \right) = \mu_{\max} x \left(1 - \frac{x}{x_m} \right), \quad (1)$$

где x_m — максимально возможная величина популяции в данных экологических условиях, т. е. результирующая биопродукционного процесса.

В уравнении (1) выражение $\left(1 - \frac{x}{x_m} \right)$ является показателем влияющих на темпы размножения лимитирующих факторов, связанных с увеличением плотности популяции. При малой плотности популяции $\mu = \mu_{\max}$.

В процессе роста и накопления биомассы параметр $\left(1 - \frac{x}{x_m} \right)$ уменьшается, в соответствии с этим μ снижается, приближаясь к нулю при $x = x_m$.

В задачу наших исследований входило изучение зависимости $\mu(x)$ у естественных популяций морского бактериопланктона с целью построения модели роста бактериальной популяции в водах разной трофности.

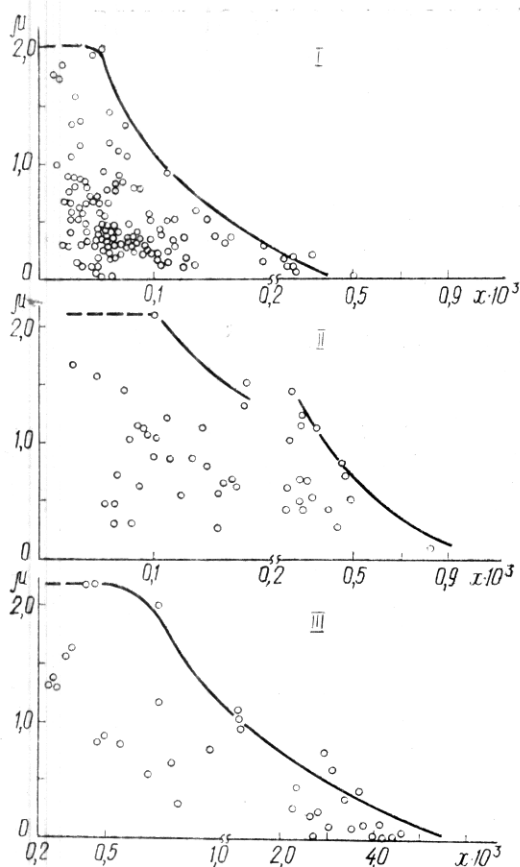


Рис. 1. Влияние плотности популяции (x , $\text{мг} \times 10^{-3}$) на интенсивность роста бактерий ($\mu \times 10^{-1}$) в открытых олиготрофных (I), шельфовых «условно чистых» (II) и загрязненных хозяйственно-бытовыми стоками (III) районах моря

ли по приросту количества клеток за сутки в склянках объемом 250—300 мл. Пробы воды фильтровали через уплотненный бумажный обеззоленный фильтр для тонких взвесей («синяя полоса»). Суточную удельную скорость роста бактерий рассчитывали исходя из их численности в начале (N_0) и в конце (N_t) опыта по формуле

$$\mu = \frac{(\ln N_t - \ln N_0)}{t} \cdot 24, \quad (2)$$

где t — время экспозиции, ч.

Все величины μ приведены к температуре 20°C с использованием температурного коэффициента Вант-Гоффа $Q_{10}=2.5$.

Как видно из рис. 1, плотности популяций бактериопланктона в исследованных районах заметно отличались. Так, в открытых олиготрофных районах океана средняя величина бактериальной биомассы не превышала $100 \text{ мг} \cdot \text{м}^{-3}$ (при максимуме до 400 мг), в шельфовых «условно чистых» водах — возросла вдвое (средняя — $200 \text{ мг} \cdot \text{м}^{-3}$, максимальная — 800 мг), в районах моря, подверженных хозяйственно-бытовому загрязнению, — увеличилась на порядок (средняя — $2000 \text{ мг} \cdot \text{м}^{-3}$, максимальная — 5000 мг). Максимальные значения μ для каждого из районов исследования отличались незначительно: 1.99 сут^{-1} — для I района, 2.13 и 2.21 — для II и III районов соответственно. Максимальные величины μ были получены при относительно низких для

Для учета биомассы бактерий (x) в пробах воды определяли общее число бактериальных клеток методом прямого счета на мембранных ультрафильтрах чешского производства марки «Сынпор-7» с размерами пор 0.3 мкм . Через фильтры диаметром 10 мм фильтровали $3\text{—}10 \text{ мл}$ воды. После фиксации фильтров в парах формалина и окрашивания эритрозином численность бактериальных клеток учитывали под микроскопом МБИ-3 при увеличении $1350\times$ с применением фазового контраста. Учет бактерий проводили в 20 полях зрения на двух параллельных фильтрах. Для перехода от количества клеток к биомассе (x) определяли объемы бактериальных клеток на фильтрах.

Объем кокков вычисляли по формуле объема шара, палочек — объема цилиндра и, учитывая малые размеры клеток (в среднем 0.1 мкм^3), рассчитывали сырую биомассу без использования коэффициента усыхания [6].

Темпы размножения бактерий (μ) в фильтрованных (для удаления зоопланктона как фактора выедания бактерий) пробах воды определяли

каждого из районов величинах биомасс: 55 мг·м⁻³ (I), 102 (II) и 443 мг·м⁻³ (III).

Для аналитического описания зависимости $\mu(x)$ в поле точек, изображенном на рис. 1, провели верхнюю огибающую по точкам, которые представляют максимальные при заданном x значения μ . Проведение верхней огибающей для каждого из районов позволяет рассмотреть зависимость $\mu(x)$ на фоне оптимального значения других сопутствующих факторов, способных оказать влияние на активность размножения клеток. Появление неблагоприятных факторов в нашем случае ставилось в зависимость только от плотности популяции.

На рисунке видно, что кривая зависимости $\mu(x)$ для каждого из исследованных районов имеет ниспадающий участок, на котором при увеличении биомассы наблюдается снижение μ , и участок «плато», где μ принимает максимальные значения. Такой характер зависимости $\mu(x)$ позволяет аппроксимировать ее кусочно-непрерывными функциями на интервалах $[0, x_0]$ и $[x_0, x_m]$. На интервале $[0, x_0]$ $\mu = \mu_s$, где μ_s — максимально возможная при заданном уровне трофии удельная скорость роста клеток. На ниспадающем участке кривой характер зависимости $\mu(x)$ существенно нелинеен, поэтому не может отвечать уравнению

$$\mu(x) = \mu_s \left(1 - \frac{x}{x_m} \right). \quad (3)$$

Для описания этого участка кривой вычислены параметры следующих зависимостей:

$$\mu(x) = \mu_s e^{-R(x-x_0)}, \quad (4)$$

$$\mu(x) = \mu_s \frac{K_x}{K_x + x}; \quad (5)$$

$$\mu(x) = \mu_s \left(1 - \frac{\ln x - \ln x_0}{\ln x_m - \ln x_0} \right) = \mu_s \left(1 - \frac{\ln \frac{x}{x_0}}{\ln \frac{x_m}{x_0}} \right). \quad (6)$$

Анализ остаточных дисперсий позволяет выбрать уравнение (6) как наилучшую альтернативу. Уравнение (6) аналогично уравнению (3) с той лишь разницей, что вместо аргумента используется его логарифм и начало координат сдвинуто по оси x на величину x_0 .

Построим зависимость $\mu(x)$ в системе координат $\ln x - \mu$ (рис. 2). По уравнению (6)

$$\mu = \mu_s \left(1 - \frac{\ln \frac{x}{x_0}}{\ln \frac{x_m}{x_0}} \right) = \underbrace{\mu_s \left(1 + \frac{\ln x_0}{\ln \frac{x_m}{x_0}} \right)}_A - \underbrace{\frac{\mu_s}{\ln \frac{x_m}{x_0}}}_{B} \ln x$$

методом наименьших квадратов получены параметры, представленные ниже:

Район	x_0 , мг·м ⁻³	x_m , мг·м ⁻³	μ_{s_i} , сут ⁻¹	A_i	B_i
I	40	335	1,99	5,46	0,94
II	120	1020	2,13	6,86	0,99
III	650	6300	2,21	8,40	0,96

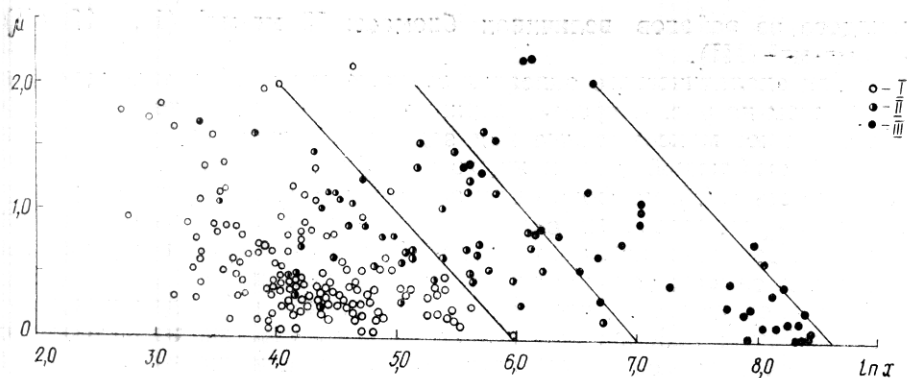


Рис. 2. Сравнение зависимостей удельной скорости роста бактерий от плотности популяций в водах разной трофности. I, II, III — как на рис. 1

Как видно из рис. 2 и таблицы, ниспадающие участки зависимостей $\mu(x)$ в исследуемых районах примерно параллельны, т. е. выражение

$B_i = \frac{\mu_{si}}{\ln \frac{x_{mi}}{x_{0i}}}$ является величиной постоянной для вод любой трофности.

На основании анализа представленных материалов о характере зависимости $\mu(x)$ была построена модель роста бактериальной популяции в водах разной трофности. С этой целью решается дифференциальное уравнение

$$\frac{dx}{dt} = \mu(x) x. \quad (7)$$

На интервале $[0, x_0]$ решение описывается зависимостью

$$x = x'_0 e^{\mu_s (t - t'_0)}. \quad (8)$$

Для интервала $[x_0, x_m]$ уравнение роста бактериальной популяции может быть записано следующим образом:

$$\frac{dx}{dt} = \mu_s x \left(1 - \frac{\ln \frac{x}{x_0}}{\ln \frac{x_m}{x_0}} \right). \quad (9)$$

Для этого уравнения получено численное решение с начальными условиями, определенными в конце первого интервала. В результате были получены S-образные кривые, характеризующиеся наличием точки перегиба и выходом на плато насыщения. Крутизна полученных кривых, определяемая величинами μ_{si} для каждого района исследования, отличалась незначительно. Поэтому они были объединены в обобщенную кривую роста со значениями $\mu_{si} = \mu_{\max} \approx 2,0 \cdot \text{сут}^{-1}$ и с тремя точками перегиба (x_{0i}) на восходящем участке кривой (рис. 3).

Высота плато насыщения определяла максимально возможную для данной трофности вод плотность популяции бактерий (x_{mi}), при достижении которой рост прекращался.

Таким образом, представленные материалы свидетельствуют о том, что увеличение плотности популяции бактерий в водах разной трофности приведет в конечном итоге к снижению скорости наращивания биомассы. С определенной степенью уверенности можно сказать, что

в условиях недостатка пищи (олиготрофные районы) ограничение роста произойдет вследствие быстрого истощения субстрата растущей биомассой. Изучение состояния бактериальной популяции в условиях неограниченного поступления пищи (загрязненные бытовыми стоками воды) являлось задачей наших дальнейших исследований.

Хозяйственно-бытовые стоки несут в море большое количество нестойкого органического вещества, пригодного для утилизации морской микрофлорой. Существует множество химических и биологических показателей для определения степени загрязненности морской воды бытовыми стоками, отличающихся большей или меньшей оценочной чувствительностью. Один из таких показателей — так называемое «микробное число» (учет гетеротрофных бактерий или сапрофитов, вырастающих на белковой среде) — широко применяется в практике санитарно-гигиенических исследований воды. Этот же показатель используется при изучении открытых незагрязненных районов моря как «микробиологический индикатор водных масс» и служит мерой концентрации усвояемого органического вещества в «чистых» пробах морской воды [5]. Авторы отмечают высокую чувствительность этого показателя и относительную простоту его измерения.

Некоторые исследователи, учитывая в пробах воды наряду с сапрофитами (б) общее количество бактерий методом прямого счета (а), использовали в качестве индикатора загрязнения коэффициент а/б. Другие авторы искали прямое соответствие между общим числом бактерий и количеством сапрофитов. Однако все эти работы носили эпизодический характер и четкого представления о характере зависимости не давали.

Нами рассмотрена взаимосвязь сапрофитной микрофлоры (как индикатора на содержание нестойкого органического вещества) и общего бактериопланктона в пробах воды из поверхностного горизонта шельфовой зоны Черного моря. Была изучена сезонная динамика состояния бактериопланктона по измерению величин плотности популяции и активности размножения клеток.

Рост сапрофитной микрофлоры учитывали по числу колоний (N , кл. · мл⁻¹), вырастающих на чашках Петри при посевах проб воды на агаризованную среду белкового состава (0,5%-ный РПА). Среда, разбавленная в 10 раз (по сравнению с общепринятой 5%-ной), использовалась с целью бо-

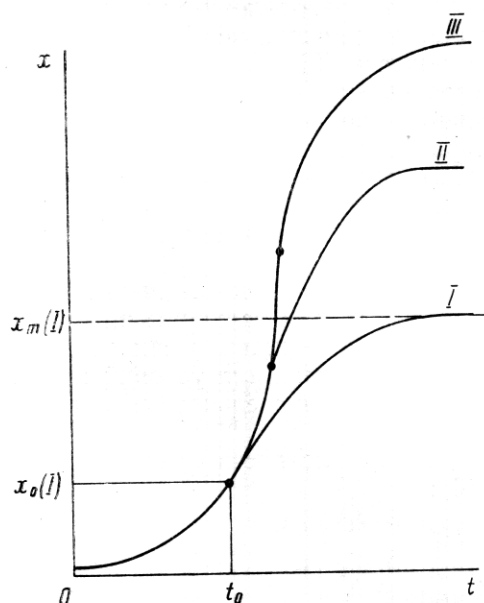


Рис. 3. Обобщенная кривая роста бактериальной популяции в условиях изменяющейся трофности вод

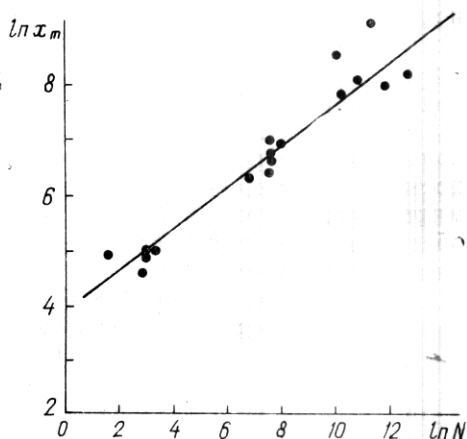


Рис. 4. Изменение предельной плотности бактериальной популяции (x_m , мг · м⁻³) в водах с разным содержанием сапрофитной микрофлоры

лее полного учета морской сапрофитной микрофлоры. Выросшие на чашках колонии учитывали под бинокулярной лупой (при увеличении 8×2 , 8×4 , 8×7) в 10 полях зрения [8].

Исследования проводились в районах Крымского и Кавказского побережий Черного моря и охватывали период с 1974 по 1983 г., включая все сезоны года. Были получены данные о величинах плотности популяции и концентрации сапрофитной микрофлоры на разном удалении от берега в районах моря, не подверженных постоянному загрязнению сточными водами, — незагрязненные пробы и в непосредственной близости от выпусков и зонах их действия — загрязненные пробы. Оконтуривание области распространения сточных вод от выпуска в море проводилось с помощью небольшого количества красителя (уранин), который вводили в коллектор на берегу. Концентрация красителя в зоне выпуска не превышала 10^{-10} г·л⁻¹, что не влияло на результаты анализа проб воды. Струя сточных вод контрастно отличалась по цвету от природной морской воды, что позволяло отбирать пробы на разном удалении от выпуска [9].

Количество сапрофитов в незагрязненных районах моря в различные сезоны года изменялось в широких пределах (от >10 до 10^5 кл·мл⁻¹) при довольно устойчивой концентрации общей бактериальной биомассы (10^1 — 10^2 мг·м⁻³). Колебания численности сапрофитов указывали на разную обеспеченность пищей микрофлоры исследованного района.

Иная картина наблюдалась в зонах постоянного воздействия источника загрязнения — на выпусках хозяйственно-бытовых сточных вод. Здесь соответственно повышению концентрации сапрофитной микрофлоры возрастали величины общей бактериальной биомассы.

На основании данных о темпах размножения бактерий в незагрязненных районах моря была отмечена тенденция к увеличению интенсивности роста бактериальной популяции соответственно повышению количества сапрофитов. На выпусках, несмотря на достаточную концентрацию органического субстрата, темпы размножения бактерий были низкими. Факт торможения бактериального роста высокими концентрациями хозяйственно-бытовых сточных вод отмечен рядом исследователей [1, 4, 11]. Авторы указали, что разбавление сточных вод речными (в отношении 1:130) создает наилучшие условия для бактериальной деструкции органических веществ [2]. На водохранилищах наблюдали замедление процессов самоочищения в районах, подвергающихся постоянному загрязнению сточными водами [10]. Можно предполагать, что подавление роста бактерий при сильном загрязнении происходит вследствие накопления высоких концентраций биомасс. Плотность популяции в этих условиях приближается к достижению того предела (x_m), при котором рост угнетается даже при наличии высоких концентраций субстрата.

Однако и в незагрязненных районах моря при относительно малых концентрациях биомасс также наблюдались низкие величины интенсивности роста бактерий в пробах с невысоким содержанием сапрофитной микрофлоры. Можно полагать, что и в этом случае для условий малой обеспеченности пищей биомасса находилась на предельном уровне, ограничивающем рост.

Зависимость удельной скорости роста от плотности бактериальной популяции описывается уравнением (6):

$$\mu(x) = \mu_{\max} \left(1 - \frac{\ln \frac{x}{x_0}}{\ln \frac{x_m}{x_0}} \right),$$

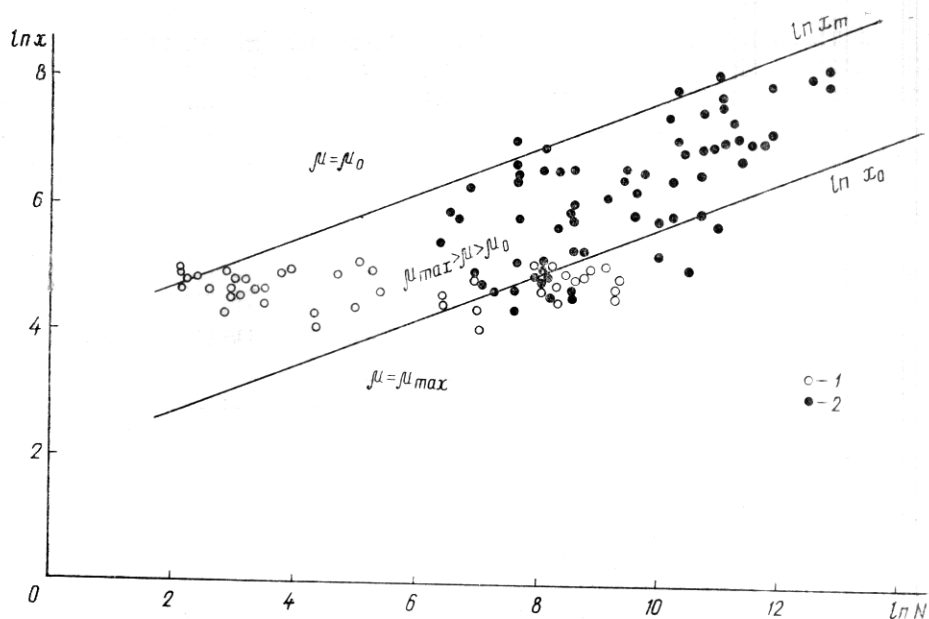


Рис. 5. Зависимость интенсивности бактериального роста от плотности популяции в водах с разным содержанием сапрофитной микрофлоры:
1 — в «условно чистых» районах, 2 — на выпусках

которое позволяет при известных μ и x рассчитывать значение x_m для вод с любым содержанием органического субстрата при условии, что $\mu_{\max} = 2,0 \cdot \text{сут}^{-1}$. Полученные данные послужили для построения количественной зависимости между величинами x_m и N . На рис. 4 видно, что зависимость $\ln x_m (\ln N)$ линейна и может быть описана уравнением

$$\ln x_m = a + b \ln N. \quad (10)$$

Методом наименьших квадратов найдены параметры $a = 3,88$ и $b = 0,38$.

Используя эту зависимость для преобразования уравнения (6), получаем

$$\mu = \frac{\mu_{\max}}{\ln \frac{x_m}{x_0}} (a + b \ln N - \ln x) = B \left(a - \ln \frac{x}{N^b} \right), \quad (11)$$

где $B = \frac{\mu_{\max}}{\ln \frac{x_m}{x_0}} \approx 1,0$ — постоянный параметр для вод любой трофности (рис. 2, данные на с. 91).

По уравнению (11) можно определить влияние меняющихся соотношений концентрации пищи и количества ее потребителей на интенсивность бактериальных процессов. При оптимальном сочетании этих факторов бактериальная популяция развивается по экспоненте до тех пор, пока биомасса не достигнет критической концентрации, подавляющей рост. Накапливание биомассы (увеличение числителя дроби $\frac{x}{N^b}$) или потребление субстрата при неизменной биомассе (уменьшение знаменателя) приведет к одинаковому результату: снижению интенсивности роста популяции. На рис. 5 в поле точек распределения бактериальной биомассы по чистым и загрязненным районам были выделены области минимальной и максимальной активности бактериальной популяции с помощью зависимостей (6) и (10).

На основании изложенного выше можно сделать вывод о том, что загрязнение водоема бытовыми стоками, обогащая среду нестойким органическим веществом, будет стимулировать бактериальную деятельность только в том случае, если не будет накапливаться биомасса. Положительное влияние в этом случае могут оказывать физические факторы (разбавление сточных вод) или биологические — включение бактерий в пищевые цепи.

1. Есырева В. И., Шахматова Р. А., Тухсанова Н. Г., Тарасова Т. Н. // Теория и практика биологического самоочищения загрязненных вод. — М.: Наука, 1972. — С. 78—81.
2. Зандмане А. К., Мелберга А. Г., Родионов В. И. Влияние нагрузки вод на микробиологические процессы самоочищения в малой реке // III съезд Всесоюз. гидробиол. о-ва. — Рига: Зинатне, 1976. — 2. — С. 17—19.
3. Иерусалимский Н. Д. Основы физиологии микробов. — М.: Изд-во АН СССР, 1963. — 242 с.
4. Кривенцова Т. Д. Влияние хозяйственно-бытовых сточных вод на развитие сапрофитных бактерий — биоагентов их очистки // Изв. АН МолдССР. Сер. биол. и хим. наук. — 1976. — № 2. — С. 49—51.
5. Крисс А. Е. Микробиологическая океанография. — М.: Наука, 1976. — 269 с.
6. Романенко В. И., Кузнецов С. И. Экология микроорганизмов пресных водоемов: (Лаб. руководство). — Л.: Наука, 1974. — 194 с.
7. Федоров В. Д., Гильманов Т. Г. Экология. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1980. — 464 с.
8. Чепурнова Э. А., Лебедева М. Н. О статистической обработке данных, полученных методом подсчета бактериальных колоний на чашках // Гидробиол. журн. — 1972. — 8, вып. 2. — С. 106—111.
9. Шульгина Е. Ф., Куракова Л. В., Куфтаркова Е. А. Химизм вод шельфовой зоны Черного моря при антропогенном воздействии. — Киев: Наук. думка, 1978. — 124 с.
10. Ярошенко М. Ф., Небережный А. И., Чорик Ф. П. и др. Биологические аспекты естественного самоочищения Дубоссарского водохранилища // III съезд Всесоюз. гидробиол. о-ва. — Рига: Зинатне, 1976. — 2. — С. 57—58.
11. Ghr̄ost Ryszard J., Sikorska Urszula. The effect of pollution on photosynthetic activity of algae and physiological activity of bacteria in lake // Pol. Arch. Hydrobiol. — 1976. — 23, N 3. — P. 357—364.

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

Получено
26.11.84

Е. А. СЧЕРПУНОВА, Н. А. ЗХАРОВ
**MICROBIOLOGICAL INDICES IN ESTIMATION
OF SELF-PURIFICATION CAPACITY OF SEA WATERS**

Summary

The dependence of the specific growth rate of the sea bacterioplankton population on the population density dynamics in waters of different trophy has been investigated. The parameters of the model of the bacterioplankton population growth in the surface layer are obtained for the oligotrophic and mesotrophic areas of the sea as well as for sewage-polluted areas. The interrelation between the saprophytic microflora (the plate method) and total bacterioplankton (the direct method) in „conditionally pure“ regions of the sea shelf and on outlets of domestic sewage is considered. The dependence of the bacterial growth intensity on the medium quality and population density is obtained.