

Н. В. БУРДИАН

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ РАЗВИТИЯ ТИОНОВЫХ И ДЕНИТРИФИЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ В АНАЭРОБНЫХ И АЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ

Изучено изменение численности тионовых и денитрифицирующих бактерий, выделенных из прибрежных наносов Севастопольских бухт, в экспериментально созданных аэробных и анаэробных условиях. Отмечено возрастание численности тиобактерий при росте в анаэробных условиях и интенсивное развитие денитрификаторов, как в аэробных, так и анаэробных условиях.

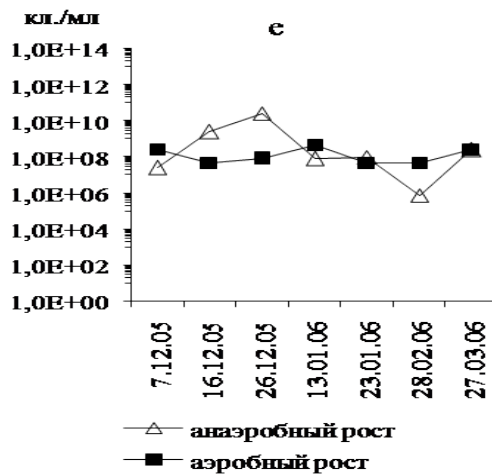
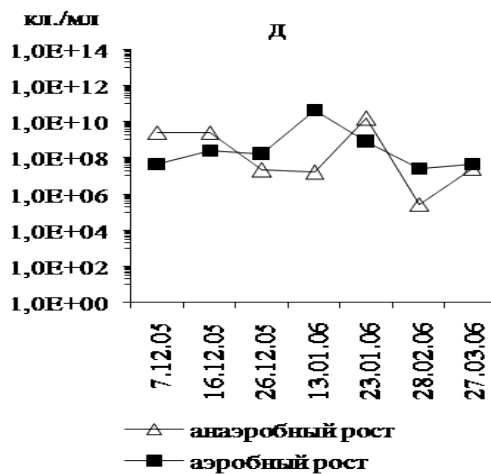
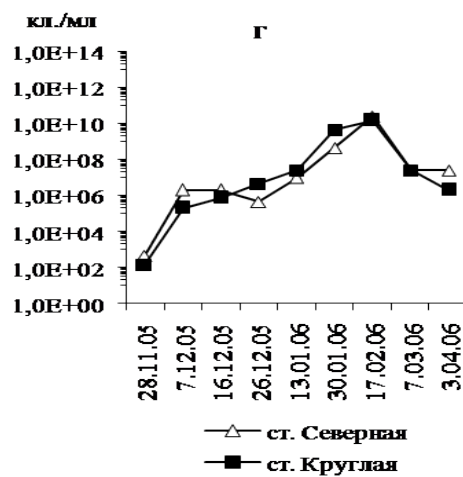
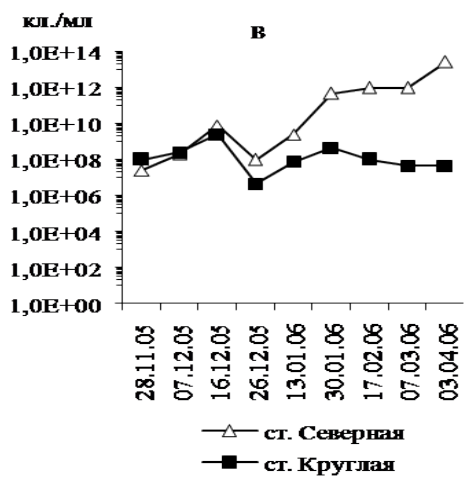
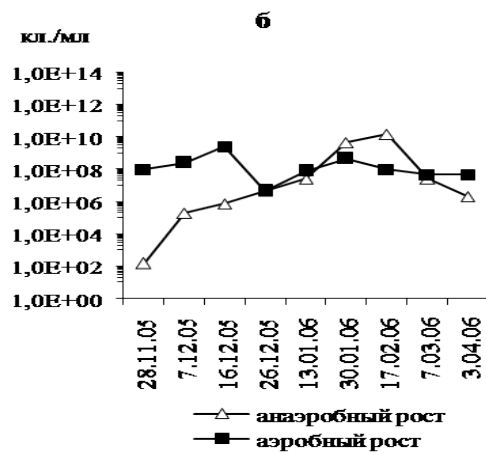
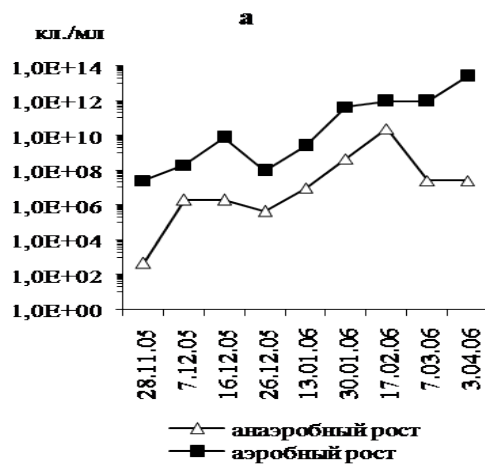
Численность и закономерность распределения бактерий тионовой и денитрифицирующей групп в прибрежных наносах региона Севастополя показана в ряде работ [1, 2, 3]. Денитрифицирующие бактерии – факультативные анаэробы. Одно из условий, определяющих энергичную деятельность денитрификаторов, – пониженное содержание кислорода или его отсутствие. Группа тионовых бактерий содержит виды, различные по своему отношению к кислороду. В контактной зоне “суша – море” действует активный гидродинамический режим, который приводит к многократной смене и образованию в прибрежных наносах аэробных и анаэробных зон. Данный факт может влиять на численность тионовой и денитрифицирующей микрофлоры, участвующей в трансформации органических веществ в контактной зоне “суша – море”. Целью настоящей работы было определение численности и динамики роста тионовых и денитрифицирующих бактерий при развитии в экспериментально созданных аэробных и анаэробных условиях.

Материал и методы. Материалом для исследования послужили пробы прибрежного наноса, отобранные в октябре 2005 г. в бухте Севастопольской (ст. Северная) – Северная сторона (причал для катеров) и бухте Круглая (ст. Круглая) – район детского пляжа. Для посева брали 1 г исследуемого грунта, который вносили в пробирку, содержащую 9 мл стерильного физиологического раствора. После тщательного перемешивания пробирки путем ручного встряхивания 1 мл полученной суспензии вносили стерильной пипеткой в пробирки с соответствующими средами: денитрификаторы на среду Гильята [8], тионовые бактерии на среду Сорокина [9] в аэробных и анаэробных условиях. В первом случае – в стерильных условиях – средой заполняли 3/4 пробирки и закрывали ватной пробкой, для создания анаэробных условий среду наливали в пробирки под резиновую пробку. Параллельно методом предельных разведений с последующим посевом 1 мл из каждого разведения в вышеперечисленные среды в аэробных и анаэробных условиях производили количественный учёт микроорганизмов. Посевы выдерживали в термостате при 30°C в течение 10 сут. Наиболее вероятное число микроорганизмов в единице объема рассчитывали по [7]. По истечении срока инкубации из полученных накопительных культур отбирали по 1 мл инокулята, переносили его в пробирки с вышеперечисленными средами в аэробных и анаэробных условиях, инкубировали в термостате при 30°C в течение 10 сут. Численность в накопительных культурах определяли по вышеописанной методике. Продолжительность эксперимента составила 4,5 мес. Численность изучаемых групп тионовых была определена в 9 случаях, денитрификаторов – в 7.

Результаты и обсуждения. Начальная численность тионовой группы бактерий на ст. Северная в анаэробных условиях составляла 450 кл./г, в аэробных – $2,5 \cdot 10^7$ кл./г, на ст. Круглая – 150 кл./г и $9,5 \cdot 10^7$ кл./г, соответственно. Места отбора проб отличались по физико-химическим показателям грунтов [4].

Рисунок 1. Динамика численности тионовой группы микроорганизмов со ст. Северная (а) и ст. Круглая (б) в аэробных (в) и анаэробных условиях (г); денитрифицирующей группы – со ст. Северная (д) и ст. Круглая (е) в процессе эксперимента

Figure 1. Dynamic of thiobacteria and denitrifying bacteria abundance in the experiments



Последующие определения показали, что без доступа кислорода численность бактерий на обеих станциях возросла до 10^5 кл./г, а в аэробных осталась без изменений – 10^7 кл./г. Известно [6], что численность тио-новых микроорганизмов со дна Чёрного моря, растущих при отсутствии свободного кислорода, почти не отличались от величин, полученных при росте в аэробных условиях.

Дальнейшие определения показали, что численность тиобактерий на обеих станциях в условиях анаэробного роста возрастала. Величины аэробного роста варьировали незначительно (рис. 1 а, б). К моменту окончания опытов численность аэробных бактерий в пробах со ст. Северная увеличилась до 10^{13} кл./г, анаэробных – до 10^7 кл./г. На ст. Круглая численность аэробных тиобактерий в конце опыта составляла 10^6 кл./г, анаэробных возросла до 10^5 кл./г. Аэробная численность тиобактерий на ст. Северная, превышает таковую на ст. Круглая (рис. 1 в). По [5], прибрежный нанос ст. Северная отличается наибольшим содержанием хлороформного битумоида и нефтяных углеводородов. В анаэробных условиях величины кривой роста тионовой группы бактерий со ст. Северная практически не отличаются от таковых на ст. Круглая (рис. 1 г). На обеих станциях разница в численности денитрификаторов в аэробных и анаэробных условиях составляет один – два порядка: на ст. Северная в начале опыта – 10^7 кл./г, в конце – 10^6 кл./г, как при аэробном, так и анаэробном росте (рис. 1 д). На ст. Круглая, исходное число денитрификаторов в анаэробных условиях – 10^6 кл./г, аэробных – 10^7 кл./г. К окончанию эксперимента количество бактерий (ст. Круглая) составило 10^9 , 10^6 кл./г, соответственно (рис. 1 е). Следует отметить, что во всех пробирках рост денитрификаторов сопровождался активным газообразованием. В аэробных условиях подщелачивание среды проходило более интенсивно, чем в анаэробных.

Выводы. Денитрифицирующие бактерии, выделенные из прибрежных наносов двух станций в районе Севастополя (ст. Круглая и Северная), интенсивно развивались в аэробных и анаэробных условиях. Численность денитрификаторов при развитии в аэробных условиях незначительно отличалась от таковой в анаэробных условиях, как в начале, так и в конце опыта. Отмечено возрастание численности тиобактерий при росте в анаэробных условиях с 10^2 до 10^5 кл./г. Аэробная численность тиобактерий, выделенных из более загрязнённой ст. Северная, к концу опыта превышает таковую ст. Круглая. Таким образом, тионовые и денитрифицирующие бактерии, обитающие в прибрежных наносах в бухте Севастопольской (ст. Северная) и бухте Круглая (ст. Круглая), приспособлены к развитию в условиях нестабильного кислородного режима.

1. Бурдиян Н. В. Денитрифицирующие бактерии в экспериментальных условиях // Понт Эвксинский IV: IV Всеукраинская научно-практическая конференция молодых ученых по проблемам Черного и Азовского морей (г. Севастополь, 24-27 мая 2005 г.) – Севастополь, 2005 – С. 22 – 23.
2. Бурдиян Н. В. Тионовые, денитрифицирующие, сульфатредуцирующие бактерии в прибрежных наносах региона Севастополя // Фундаментальные исследования важнейших проблем естественных наук на основе интеграционных процессов в образовании и науке: тез. докл. между. научн. конф. (Севастополь, 19-24 август 2006 г.). – Севастополь. – 2006. – С. 123.
3. Бурдиян Н. В. Численность тионовой группы бактерий в экспериментальных и полевых условиях // Водные экосистемы, организмы, инновации – 8: Тез. докл. VIII между. конф. (Москва, 20 октября 2006 г.). – 2006. – С. 78.
4. Бурдиян Н. В., Рубцова С. И. Влияние некоторых абиотических факторов на закономерность распространения и численности сульфатредуцирующих и углеводородокисляющих бактерий в прибрежных наносах региона Севастополя (Черное море) // Проблемы устойчивого функционирования водных и наземных экосистем: Мат. между. научн. конф., Россия, г. Ростов-на-Дону, 9 – 12 октября 2006 г. – С. 52 – 53.
5. Кирюхина Л. Н., Шадрин Т. В. Липиды и углеводороды в прибрежных наносах Севастопольской акватории // Экология моря. – 2004. – Вып. 66. – С. 59 – 63.
6. Крисс А. Е. Морская гидробиология - М., 1959. - 453 с.

7. *Практикум по микробиологии* / Под ред. проф. А. И. Нетрусова – М.: Академия, 2005. – 600 с.
8. *Родина А. Г.* Методы водной микробиологии. – М.: Наука, 1965. – 361с.
9. *Сорокин Ю. И.* Микрофлора грунтов Черного моря // *Микробиология*. – 1962. – **31**, 5. – С. 899 – 903.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г. Севастополь

Получено 05.02.2007

N. V. B U R D I Y A N

EXPERIMENTAL STUDY OF THIOBACTERIA AND DENITRIFYING BACTERIA DEVELOPMENT IN ANAEROBIC AND AEROBIC CONDITIONS

Summary

Changes in abundance of the studied groups of thiobacteria and denitrifying bacteria, growing in the experimentally created aerobic and anaerobic conditions, from the offshore alluviums of some Sevastopol Bays have been shown. Increase of thiobacteria abundance under anaerobic conditions and intensive development of denitrifying bacteria both in aerobic and anaerobic conditions have been marked.

ЗАМЕТКА

Обнаружение цианобактерий рода *Spirulina* в водах Балаклавской бухты [Finding of *Spirulina* sp. in the Balaklava Bay]. Экологический мониторинг вод Балаклавской бухты, начатый в 2000 г., продолжается по настоящее время. Частота отбора проб собственно в Балаклавской бухте – 1 раз в месяц (4 станции), в Балаклавской бухте и прилегающей акватории Чёрного моря – раз в сезон (9 станций). В пробах воды, отобранных в 2004 – 2006 гг., на трёх из девяти станций обнаружены цианобактерии. В пробах, взятых из «факела» основного выпуска хозяйственно-бытовых сточных вод города, выявлена 100 % встречаемость этих цианобактерий. По одному случаю обнаружения их отмечено в пробах из кутовой части бухты (станция 1) и на станции 2, расположенной у выхода из бухты. Заметим, что при определённых ветро-волновых ситуациях «факел» сточных вод от основного выпуска достигает станции 2. Трихомы сине-зелёного, ненасыщенного цвета, шириной от 3 до 6 м, образуют правильные спирали. Ширина (диаметр) оборотов спирали варьирует от 8 до 24 м. Расстояние между витками спирали от 2 до 12 м. Поперечные перегородки при наблюдении в световой микроскоп не заметны. Биомасса цианобактерий составила от 0,11 до 1,92 мг·м⁻³. Идентифицировать их удалось только до рода – *Spirulina* sp. (рис. 1).

Возможны два объяснения локализации *Spirulina* sp. в «факеле» сточных вод и в кутовой части Балаклавской бухты: 1. *Spirulina* sp. обитают в морской среде в малых количествах. В кутовой части бухты и в местах выхода сточных водах условия обитания (пониженная солёность, избыток биогенных веществ) для них более благоприятны, и поэтому они здесь встречаются в большем количестве, чем в чистой морской воде.

2. Источником поступления *Spirulina* sp. в морскую среду служат канализационные и пресные поверхностные воды, где эти цианобактерии обитают.

Попов М. А. (Институт биологии южных морей, г. Севастополь, Украина).

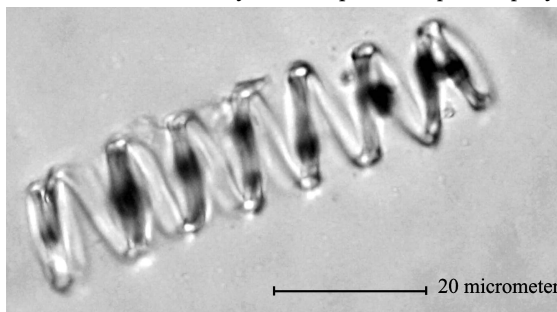


Рис. 1 Цианобактерия *Spirulina* sp (проба отобрана 30 августа 2004 г. из «факела» основного выпуска хозяйственно-бытовых сточных вод г. Балаклава)