

## ГЕТЕРОТРОФНЫЕ БАКТЕРИИ – ПОКАЗАТЕЛИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ И САМООЧИЩЕНИЯ МОРСКОЙ СРЕДЫ

Рассмотрена динамика численности различных групп гетеротрофных микроорганизмов в морской воде в течение дня и в течение года (бухта Круглая, район Севастополя). Отмечено, что численность гетеротрофных и нефтеокисляющих бактерий минимальна в зимний, максимальна – в летний период, когда температурный режим и количество питательных веществ оптимальны для микроорганизмов. Численность гетеротрофных, липополитических, амилолитических микроорганизмов, бактерий кишечной группы в летнее время увеличивается к концу дня, по сравнению с утренними часами. Однонаправленного тренда при исследовании динамики численности нефтеокисляющих и фенолокисляющих микроорганизмов в течение дня отмечено не было, но прослеживается связь с направлением ветровых течений. Высокая численность гетеротрофных бактерий свидетельствует о загрязнении бухты Круглая органическими веществами и о высокой степени адаптации микроорганизмов к их разрушению.

Прибрежная зона бухты Круглая (Севастополь, Черное море) относится к контактной зоне "суша-море", где сталкиваются и концентрируются потоки загрязняющих веществ, идущих как с суши, так и со стороны моря [9]. Гетеротрофные бактерии являются одним из показателей степени эвтрофирования водоема и позволяют оценить качество морской воды. Численность гетеротрофных бактерий, бактерий группы кишечной палочки, нефтеокисляющих и фенолокисляющих бактерий характеризует степень антропогенного загрязнения прибрежной полосы.

Целью настоящей работы являлось количественное исследование различных групп гетеротрофных микроорганизмов – показателей загрязнения и самоочищения прибрежной зоны бухты Круглая.

**Материал и методы.** Сбор материалов проводили ежемесячно (утром) в течение 2000 - 2001 гг., а в июле, августе 2001 г. пробы морской воды отбирали утром с 7.00 до 8.00 ч и вечером с 17.00 до 18.00 ч по ранее разработанным методикам [8] с глубины 0,5 м (район детского пляжа бухты Круглая).

Количество нефтяных углеводородов определяли методом инфракрасной спектрофотометрии, численность микроорганизмов – методом предельных разведений на соответствующих средах по [2, 5]. Для исследования численности гетеротрофных микроорганизмов использовали пептонную воду, для нефтеокисляющих – среду Диановой-Ворошиловой (Д-В) с добавлением нефти, для липополитических – среду Д-В с добавлением жира, для бактерий, гидролизирующих крахмал – среду Д-В с добавлением крахмала, для фенолокисляющих бактерий – среду Калабиной, для бактерий кишечной группы – среду Эндо. Микробное число определяли методом посева на твердую питательную среду (РПА). Все полученные данные численности микроорганизмов подвергали статистической обработке по методу Мак-Креди [10].

Кроме определения численности микроорганизмов различных физиологических групп, мы вели наблюдения за погодой. При отборе проб учитывались следующие факторы окружающей среды: наличие или отсутствие ветра, его направление, атмосферные осадки, волнение моря, температура воды и воздуха. Состояние моря определяли по шкале Бофорта, направление ветра – флюгером, температуру воздуха и поверхностного слоя морской воды – ртутным термометром, наличие и характер осадков – визуально.

**Результаты и обсуждение.** Поступающие в воду органические вещества служат пищей микроорганизмам, и поэтому обогащение воды этими веществами непременно влечет за собой вспышку развития микрофлоры. Увеличение количества бактерий-сапрофитов при загрязнении водоемов наблюдается прежде, чем становится заметным изменение химических показателей воды. По этой причине учет сапрофитной микрофлоры – очень важный показатель санитарного состояния водоема.

Микроорганизмы являются биоиндикаторами наличия различных видов загрязняющих веществ в морской воде. Гетеротрофные бактерии в своем питании используют легкодоступные органические вещества. Наличие нефтеокисляющих, фенолокисляющих, липолитических, амилолитических микроорганизмов свидетельствует о присутствии в воде загрязнений органического происхождения. Все перечисленные группы бактерий позволяют оценить качество морской воды в бухте Круглая и исследовать роль гетеротрофных микроорганизмов в процессе самоочищения прибрежных загрязненных вод.

Донные осадки бухты Круглая представлены в основном песками, за исключением вершины бухты, где к пескам примешиваются тонкозернистые темные илы. Количество хлороформного битумоида в донных осадках варьирует в пределах 0,05 - 0,09 г/100г грунта, нефтяных углеводородов – 3,8 - 42,2 мг/100 г грунта.

Результаты проведенных микробиологических посевов приведены в табл. 1.

Таблица 1. Результаты микробиологических исследований морской воды (бухта Круглая)

Table 1. Results of microbiologic researches of sea water (Bay Kruglaya)

Дата отбора проб	Численность микроорганизмов, кл./мл							
	Гетеротрофных (*10 <sup>4</sup> )		Микробное число (*10)		Рост на среде Эндо		Рост на глюкозе(*10 <sup>3</sup> )	
	Утро	Вечер	Утро	Вечер	Утро	Вечер	Утро	Вечер
16.07	2,5	6,5	49	180	-*	5	45	200
23.07	4,5	4,5	39	190	-	2	2500	2500
31.07	0,45	20	15	87	2	4	4	15
7.08	0,45	7,5	81	75	1	5	1,5	4,5
8.08	3	25	25	120	-	6	11,5	200
13.08	0,15	95	57	190	1	5	9,5	25
16.08	2,5	95	9,8	240	-	4	250	1150
21.08	4,5	95	15	290	1	6	11,5	950
23.08	0,45	75	24	85	-	5	40	950
28.08	9,5	30	41	210	-	3	45	250

-\* - нет роста

Как следует из приведенных данных, к концу дня происходит увеличение общего количества гетеротрофных микроорганизмов. Численность бактерий, использующих глюкозу в качестве источника углерода и энергии, и микроорганизмов, гидролизирующих крахмал, к концу дня увеличивалась в 90 % случаев. Микробное число и численность микроорганизмов кишечной группы в утренние часы была ниже, чем в вечерние (в 100 % случаев). Результаты бактериологического анализа весьма показательны при оценке степени загрязненности водоема. Особенно важны данные о численности бактерий группы кишечной палочки, так как они дают основание судить о возможности присутствия в воде патогенных микроорганизмов. Присутствие в воде кишечной палочки свидетельствует о фекальном загрязнении и о потенциальной возможности содержания в воде кишечных инфекций. Высокая численность гетеротрофных микроорганизмов свидетельствует о постоянном присутствии в прибрежной зоне бухты Круглая загрязняющих веществ органического происхождения. Микробное число и численность бактерий кишечной палочки свидетельствуют о непосредственном воздействии человека на прибрежную акваторию.

В результате купания людей с одновременным механическим взмучиванием донных осадков в морской воде происходит увеличение количества взвеси и легкодоступных для бактерий органических веществ. Вместе с тем, в течение дня увеличивается численность микроорганизмов, утилизирующих органические загрязнения. Ночью происходит снижение рекреационной нагрузки на экосистему бухты, уменьшается волнение моря, взвешенные вещества оседают на дно, а вместе с ними и органические вещества с прикрепленными к ним бактериями. По [3], при купании с одного человека смыывается около 3 млрд. клеток микроорганизмов, в том числе 20 млн. клеток кишечной палочки. Высокая численность бактерий, использующих в своем питании органические

соединения, свидетельствует о проходящих процессах эвтрофикации в бухте Круглая. По численности гетеротрофных микроорганизмов бухту Круглая можно отнести к гиперэвтрофному району.

Численность гетеротрофных микроорганизмов хорошо коррелирует с микробным числом, численностью бактерий, растущих на среде Эндо, и бактериями, использующими в качестве источника углерода глюкозу (коэффициенты корреляции превышают 0,7 при  $P = 0,05$ ). Согласно бактериологическим показателям загрязненности водоемов [1] бухту Круглая мы отнесли к умеренно-загрязненным водоемам (титр кишечной палочки  $1 - 0,05$  мл, микробное число – в пределах  $10^3$ , численность гетеротрофных микроорганизмов – в пределах  $10^6$  кл/мл.).

Как показали предшествующие исследования [7], санитарно-бактериологические показатели загрязнения морской воды значительно чувствительнее санитарно-химических. По мере удаления от источника загрязнения санитарно-бактериологические методы наиболее надежно показывают дальность распространения загрязнения от его источника. Подобной чувствительностью обладают и микроорганизмы, растущие на нефти, которые высевались из морской воды, где концентрация нефти не определялась химическими методами. Это обстоятельство представляет практический интерес, поскольку по наличию в море таких бактерий можно судить о присутствии в воде низких концентраций нефтепродуктов порядка  $10^{-4} - 10^{-5}$  мл/л, которые оказывают в ряде случаев токсический эффект на морские организмы [7]. По [7], при совместном попадании в морскую воду углеводородных и неуглеводородных источников углерода, в частности нефти и хозяйствственно-бытовых сточных вод, в первую очередь может идти самоочищение акватории от органических компонентов хозяйствственно-бытовых стоков, а скорость разрушения нефти в морской воде будет замедляться.

Среди большого числа веществ, загрязняющих морскую среду, фенолы, наряду с нефтепродуктами, хлорорганическими соединениями и некоторыми тяжелыми металлами, наиболее опасны. Это объясняется высокой токсичностью и широким распространением этих углеводородов. Количественное содержание фенола в воде влияет на численность фенолокисляющих бактерий, что позволяет рассматривать их в качестве показателей фенольного загрязнения, а также способности к естественному самоочищению морской воды от этого токсиканта. Численность фенолокисляющих бактерий в период исследований варьировала в пределах 3 – 450 кл/мл морской воды, что свидетельствует о хорошей адаптации к фенолу микроорганизмов (табл. 2).

Нефтеокисляющие микроорганизмы составляют незначительную часть от общего количества гетеротрофов в морской воде. Коэффициент корреляции между нефтеокисляющими и гетеротрофными бактериями равен 0,4 ( $P = 0,05$ ). Численность нефтеокисляющих бактерий примерно на 2-3 порядка величин меньше численности гетеротрофных бактерий и составляла в период исследований от 4 до 1150 кл/мл. Но именно нефтеокисляющим микроорганизмам принадлежит решающая роль в трансформации нефтяных углеводородов в море и включении последних в общий круговорот углерода и энергии в океане [3, 6]. Коэффициент корреляции между численностью нефтеокисляющих и фенолокисляющих бактерий равен 0,61, нефтеокисляющих и липополитических бактерий - 0,53 (жир и фенол могут образовываться в процессе биодеградации нефти).

При анализе гидрометеорологических показателей (табл. 3) нами отмечено, что при ветре северных направлений численность нефтеокисляющих и фенолокисляющих бактерий в течение суток возрастила. Нефть, вылитая на поверхность моря, а вместе с ней и окисляющие ее микроорганизмы, под действием ветра могут перемещаться на большие расстояния [9]. Нефть, пролитая в открытом море, при северном ветре со временем оказывается в прибрежных районах бухты Круглая. В период наблюдений не было осадков ливневого характера, которые могли бы смыть нефтепродукты с берега. Поэтому нефтяное загрязнение в данном случае может идти со стороны моря.

В 2000 - 2001 гг. нами исследовалась численность нефтеокисляющих микроорганизмов в прибрежной зоне бухты Круглая. В результате было отмечено, что при ветре северных направлений происходило увеличение численности нефтеокисляющих микро-

**Таблица 2. Результаты микробиологических исследований морской воды (бухта Круглая)**  
**Table 2. Results of microbiologic researches of sea water (Kruglaya Bay)**

Дата отбора проб	Численность микроорганизмов в морской воде, кл/мл								
	липолитические		амилолитические		нефтеокисляющие		фенолокисляющие		
	утро	вечер	утро	вечер	утро	вечер	утро	вечер	
16.07	450	250	450	950	250	7	20	3	
23.07	75	150	75	2500	7	4	4	20	
31.07	9	75	75	115	9	65	40	20	
7.08	11,5	45	4	65	150	300	15	45	
8.08	65	150	15	200	75	45	4	75	
13.08	11,5	150	250	450	15	7,5	30	15	
16.08	95	250	45	950	950	1150	25	450	
21.08	450	950	200	650	450	950	75	45	
23.08	45	75	95	200	95	450	20	16	
28.08	75	16	95	250	75	11,5	40	65	

**Таблица 3. Гидрометеорологические показатели в районе бухты Круглая в период исследований**

**Table 3. Hydrometeorological parameters in Kruglaya Bay zone during research period**

Дата	Температура воздуха, °C		Температура воды, °C	Направление ветра	Осадки
	днем	ночью			
16.07	31	21	24	северо-восточный	-
23.07	30	20	25	северо-восточный	кратковр. дождь
31.07	32	22	27	северный	-
7.08	33	21	25	восточный	-
8.08	31	22	26	восточный	-
13.08	28	21	27	северный	дождь, гроза
16.08	26	20	27	северный	-
21.08	31	21	25	северный	-
23.08	28	21	26	северный	кратковр. дождь
28.08	24	15	26	северо-западный	кратковр. дождь

организмов в водах бухты. При анализе выпадающих осадков и волнения моря мы получили разнородные данные, и какой-либо зависимости нам установить не удалось. Что касается температуры, то в сезонной динамике численности бактерий отмечена четкая зависимость от сезонов года. Наибольшая численность гетеротрофных и нефтеокисляющих микроорганизмов отмечена летом и в начале осени, что объясняется, по всей видимости, оптимальной для роста бактерий температурой воды и повышенными концентрациями органического вещества. Наименьшая численность бактерий наблюдалась в зимний период (см. рис.).

Таким образом, большинство выделенных гетеротрофных микроорганизмов показало способность расти не только на пептоне, но и на других источниках углерода, в частности на глюкозе, крахмале, среде Эндо, жире, феноле, нефти. Это свидетельствует о наличии этих компонентов в морской воде бухты Круглая, а также способности к естественному самоочищению морской воды от этих загрязняющих веществ. Численность гетеротрофных микроорганизмов, бактерий группы кишечной палочки, микробов, гидролизирующих крахмал и глюкозу минимальна утром и максимальна в вечернее время, когда рекреационная нагрузка на бухту максимальна. Использование микробов в качестве индикаторов загрязнения окружающей водной среды позволяет высказать утверждение о том, что в течение дня в море происходит увеличение количества органических загрязняющих веществ, по всей видимости, за счет антропогенной нагрузки.

При анализе динамики численности нефтеокисляющих и фенолокисляющих бактерий одностороннего тренда нами отмечено не было, но прослеживалась связь с направлением ветровых течений. Высокая численность гетеротрофных бактерий свиде-

тельствует о загрязнении бухты Круглая органическими веществами и о высокой степени адаптации микроорганизмов к их разрушению.



Рисунок. Численность нефтеокисляющих микроорганизмов (кл/мл) в морской воде бухты Круглая (станция 1 - вершина бухты, станция 2 - район детского пляжа)

Figure. Number of oil-oxidasing microorganisms in sea water of Kruglaya Bay (station 1 – top of a bay , station 2 –children's beach)

1. Голубовская Э. К. Биологические основы очистки воды. - М.: Высшая школа, 1978. – 272 с.
2. Егоров Н. С. Практикум по микробиологии. - М.: МГУ, 1976. – 305 с.
3. Иваница В., Юргелайтис Н. Море под микроскопом / Черноморские румбы. – Одесса: Маяк, 1989. - С. 57 - 69.
4. Миронов О. Г., Кирюхина Л. Н., Алемов С. В. Комплексные экологические исследования Балаклавской бухты // Экология моря. - 1999. - Вып. 49. - С. 16 - 21.
5. Миронов О. Г., Кирюхина Л. Н., Кучеренко М. И., Тархова Э. П. Самоочищение в прибрежной акватории Черного моря. – К.: Наукова думка, 1975. - 144 с.
6. Миронов О. Г. Микроорганизмы Черного моря, растущие на углеводородах // Микробиология, 1969. - 38, вып. 4. – С. 728 - 731.
7. Миронов О. Г. О роли микроорганизмов, растущих на нефти, в самоочищении и индикации нефтяного загрязнения в море // Океанология. - 1970. – 10, вып. 5. - С. 820 - 827.
8. Миронов О. Г. Микробиологическая индикация нефтяного загрязнения в морской среде // Методы исследования органического вещества в океане. - М.: Наука. - 1980. - С. 275 - 283.
9. Миронов О. Г. Санитарно-биологические направления исследований акватории контактной зоны "суша-море" // Экология моря. - 2001. - Вып. 57. - С. 85 - 90.
10. Родина А. Г. Методы водной микробиологии. - М.-Л.: Наука, 1965. - 347 с.

Институт биологии южных морей НАН Украины,  
г. Севастополь

Получено 12.02.2002

После доработки 24.09.2002

S. I. RUBTSOVA

#### HETEROTROPHIC BACTERIA AS MEASURES OF POLLUTION AND SELF-CLEANING OF SEA ENVIRONMENT

##### Summary

Dynamic of number of various bunches of heterotrophic microbes in sea water within day and within one year (Kruglaya Bay, Sevastopol) is considered. The number of heterotrophic and oil-oxidazing bacteria is minimal in the winter, is maximal - in the summer, when a temperature schedule and quantity of nutrient materials are optimum for microbes. The number heterotrophic, lipolytic, amylolytic of microbes, intestines bacteria in the summer is increased to the end of day, in comparison with morning hours. Unidirectional trend of dynamics of number oil-oxidazing and phenol-oxidazing of microbes within day was not marked. The high number of heterotrophic bacteria testifies to pollution of Kruglaya Bay organic matters.