

ISSN 0203-4646

ЭКОЛОГИЯ МОРЯ



22
—
1986

- морской воде. — В кн.: Материалы V Всесоюз. науч. симпози. «Вопросы смешения сточных вод и самоочищение водоемов», 18—21 нояб. 1975 г., Таллин, М.: Политехн. ин-т, 1975, с. 179—180.
6. Копытов Ю. П. Влияние температуры на скорость биodeградации нефти в морской воде. — Экология моря, 1983, вып. 14, с. 75—80.
 7. Копытов Ю. П., Миронов О. Г., Цуканов А. В. Влияние некоторых экофакторов на самоочищение морской воды от нефти. — Вод. ресурсы, 1982, 2, с. 129—136.
 8. Мацевская М., Раковская Э. Свойства бактерий, разлагающих углеводороды в Балтике, и некоторые факторы, влияющие на их активность. — В кн.: Загрязнение солоноватых морей: Сб. докл. междунар. симпози. стран — членов СЭВ по пробл. 2. 7. Гдыня: Издат. центр Ин-та мор. рыболовства. 1976, с. 463—487.
 9. Назаренко С. А., Штевнева А. И. Экспериментальное исследование нефтеокисляющей микрофлоры и скорости разложения солярового масла. — Тр. Океаногр. ин-та, 1975, вып. 127, с. 58—82.
 10. Немировская И. А. К вопросу определения нефтепродуктов в морской воде. — В кн.: Материалы V Всесоюз. науч. симпози. «Вопросы смешения сточных вод и самоочищение водоемов», 18—21 нояб. 1975 г.; Таллин. М.: Политехн. ин-т, 1975, с. 107—113.
 11. Флудгейт Дж. Д. Биологический распад углеводородов в морской воде. — В кн.: Микробиология загрязненных вод. М.: Медицина, 1976, с. 135—149.
 12. Штерн Э., Тиммонс К. Электронная абсорбционная спектроскопия в органической химии. — М.: Мир, 1974. — 295 с.
 13. JMCO (FAO) UNESCO (WMO)IAEAUN Join Group of Marine Pollution (GESAMP). — Impact of oil on the marine environment rep. stud. GESAMP, 1977, 6. — 250 p.
 14. Zo Bell C. E. Microbial degradation of oil present status, problems and perspectives. — In: The microbial degradation of Oil Pollutions, center for wetland resources. Louisiana: State Univ. 1973, p. 3—16.

Ин-т биологии юж. морей

им. А. О. Ковалевского АН УССР, Севастополь

Получено 27.05.83

Yu. P. KOPYTOV, A. Sh. AKHMETOV

METHODS AND CERTAIN RESULTS OF STUDIES ON THE INFLUENCE OF THE TEMPERATURE, DISPERSION AND CONCENTRATION OF OIL ON THE RATE OF THE SEA WATER AUTOPURIFICATION

Summary

The method of fractional factorial experiment was used to study in dynamics the influence of the temperature, dispersion and concentration of oil on the rate of its destruction in the sea-water.

As to the data of gravimetric analysis the initial concentration of oil exerted the highest positive influence on the rate of the process under study. An increase in the degree of oil dispersion produced a two-lower order effect. In the beginning of the experiment the temperature influence was positive and at the close — negative. Simultaneously oil samples were analyzed by the method of UV-spectroscopy which permitted estimating the influence of the enumerated factors on the transformation of aromatic hydrocarbons. The data obtained serve as a basis to discuss the problem on long-term utilization of the UV-spectroscopy method in certain sanitary-toxicological research.

УДК 576.8:551.46.09:628.39(26)

Э. П. ТАРХОВА, Л. Я. ТАТАРЕНКО

ГЕТЕРОТРОФНЫЕ И НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ В ИСКУССТВЕННЫХ СИСТЕМАХ

В последнее время все большую актуальность приобретают вопросы биологического анализа загрязненных вод [1, 8]. Осуществление контроля за чистой водой на основе широкого комплекса наблюдений, включая оценку роли отдельных группировок водных организмов в мониторинге водоемов разного типа, приобрело большое значение [3].

Цель настоящей работы — определить возможность и биологическую активность микроорганизмов перифитона в осуществлении деградации органического вещества на основе сравнительных данных о численности, культуральных признаках и физиолого-биохимических

Таблица 1. Численность углеводородоокисляющих и гетеротрофных бактерий в воде и перифитоне в аквариальной системе

Место отбора пробы	Содержание нефти, мг/л	Вода				Перифитон			
		N_H	n_H	N_T	n_T	N_H	n_H	N_T	n_T
Демонстрационный аквариум	0,30	10^1	3	10^5	8	$2 \cdot 10^3$	7	$2 \cdot 10^6$	7
Бак	0,90	10^3	4	10^5	6	$2 \cdot 10^4$	4	$2 \cdot 10^{10}$	5
Вход в экспериментальный аквариум	1,1	10^2	5	10^4	7	$2 \cdot 10^5$	8	$2 \cdot 10^8$	11
Выход из экспериментального аквариума	1,0	10^3	3	10^5	10	$2 \cdot 10^4$	7	$2 \cdot 10^8$	8

Примечание. N_H — количество нефтеокисляющих бактерий, кл/мл; N_T — количество гетеротрофных бактерий, кл/мл; n_H — число культур нефтеокисляющих бактерий; n_T — число культур гетеротрофных бактерий.

свойствах микроорганизмов, выделенных из морской воды и перифитона искусственных систем.

Материалы и методы. Материал, положенный в основу работы, собран в аквариальной системе ИНБЮМ в осенний период 1977—1979 гг.

Количественный учет углеводородоокисляющих микроорганизмов в воде проводился по общепринятой в отделе морской санитарной гидробиологии методике [6]. Для учета бактерий перифитона применяли метод Ю. А. Горбенко [2]. Вместо предметных стекол, погружающихся в воду на некоторый период времени для наращивания слизистой пленки, использовали 15 см^2 поверхности внутренних стенок стеклянных аквариумов и металлических конструкций, куда вода по трубам поступает из бухты.

Емкости, аквариумы и система трубопровода аквариальной системы отличались различной степенью нефтяного загрязнения, конструкцией, наличием очистительных систем и сроком эксплуатации.

Выделение чистых культур нефтеокисляющих бактерий проводили посевом накопительной культуры на твердую среду Диановой и Ворошиловой с нефтью, гетеротрофных — посевом исследуемой культуры на стандартный сухой питательный агар. Для определения родовой принадлежности выделенных культур пользовались определителем Берги [10].

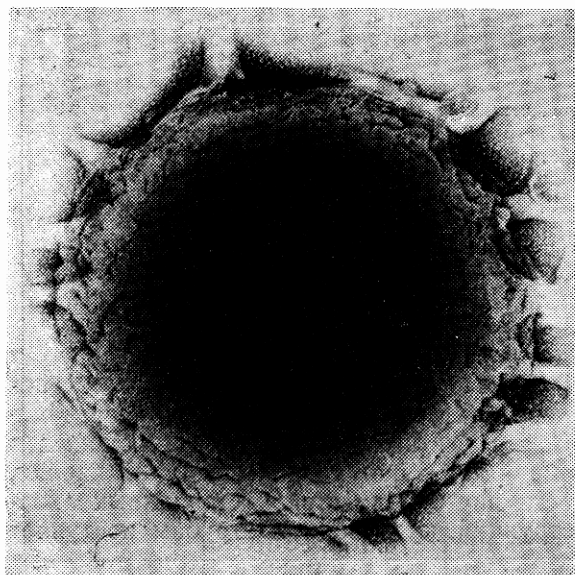
Результаты. Численность бактериопланктона и перифитонных микроорганизмов. Проведенные исследования свидетельствуют, что в резервуаре-отстойнике и новом демонстрационном аквариуме количество клеток бактерий, окисляющих углеводороды нефти, составило 10 — 10^2 , гетеротрофных — 10^3 — 10^5 кл/мл морской воды (табл. 1). В системе трубопроводов экспериментального аквариума количественное содержание бактериопланктона составило 10^2 — 10^3 кл/мл для нефтеокисляющих бактерий и 10^4 — 10^5 кл/мл морской воды для гетеротрофов.

Известно [11, 12], что почти все водные бактерии хотя бы временно ведут прикрепленный образ жизни. Постоянное поступление воды по проточным системам создает благоприятные условия для прикрепившихся перифитонных микроорганизмов.

Количественное содержание углеводородоокисляющих перифитонных бактерий в соскобах, взятых со стенок демонстрационного аквариума, — $2,0 \cdot 10^3$ кл/см². В баке количество микробных клеток на порядок больше. Более высокая численность перифитонных бактерий, окисляющих углеводороды нефти, наблюдается в соскобах, взятых из трубопроводов при входе в экспериментальный аквариум — $2,0 \cdot 10^5$ кл/см². Количество гетеротрофов, выделенных из перифитона аквариальной системы, превышало численность нефтеокисляющих микроорганизмов на несколько порядков (см. табл. 1).

Анализ приведенных в табл. 1 данных о численности нефтеокисляющих и гетеротрофных бактерий, обитающих в воде и перифитоне аквариальной системы, показал, что их распределение находится в прямой зависимости от содержания нефтепродуктов в среде, отражает изменения, протекающие в ней [4, 7], что свидетельствует об индикации их на степень загрязнения.

Сопоставляя данные содержания углеводородокисляющих бактерий в воде и перифитоне искусственных систем, следует отметить, что чис-



Клетка с выростами типа фимбрий.

ленность перифитонных бактерий превышала численность водных на несколько порядков. Это, по-видимому, объясняется лучшим накоплением органического вещества вследствие адсорбционных явлений на стенках уже давно существующих искусственных систем (бака и трубопроводов). При адсорбции водное органическое вещество качественно преобразуется и становится более доступным бактериальным ферментам [5]. Последнее способствует хорошей утилизации органики микроорганизмами, а следовательно, их лучшему размножению. По-видимо-

му, в трубопроводах и аквариумах складываются специфические условия по сравнению с открытыми водоемами, которые и определяют количественное развитие бактерий.

Морфологические и культуральные признаки. Из воды аквариальной системы выделена 61 культура, 26 из которых дали хороший рост на специальной среде с углеводородами.

В основном они представлены палочковидными клетками различной длины (от 1 до 15 мкм), чаще всего отмечена встречаемость клеток длиной 8—15 мкм. Палочковидные формы отличаются большим разнообразием (по морфологии): клетки равномерной по всей длине толщины, с утолщением в середине или в конце клетки, а также спиралевидные и изогнутые. Электронно-микроскопический просмотр активных культур нефтеокисляющих бактерий позволил обнаружить микроорганизмы с выростами типа различных фимбрий, которые обуславливают увеличение поверхности клеток (рисунок).

В микроценозах аквариальной системы встречались представители родов *Pseudobacterium*, *Pseudomonas*, *Bacterium*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Vibrio*, *Sarcina*, *Spirillum*.

Самыми многочисленными по числу выделенных культур были представители родов *Pseudomonas* и *Pseudobacterium*.

Из перифитона выделена 31 культура, из них большая часть (26) оказалась способной использовать нефть. Из числа изолированных колоний микроорганизмов более половины составляли бесцветные штрихи. Значительно реже встречались окрашенные формы.

Углеводородокисляющую микрофлору перифитона отнесли к родам *Pseudomonas* (12 культур), *Bacterium* (5 культур), *Vibrio* (3 культуры), *Bacillus* (4 культуры), *Micrococcus* (2 культуры). Преобладающими были *Pseudomonas* и *Bacterium*. В большинстве это подвижные формы,

Таблица 2. Рост нефтеокисляющих бактерий на углеводородах нефти (в % к общему числу культур)

Признак роста	Вода		Перифитон	
	Малгобекская нефть	Ромашкинская нефть	Малгобекская нефть	Ромашкинская нефть
A	22,7	18,2	18,0	36,2
A ₁	31,8	27,3	10,4	34,6
A ₂	4,5	9,1	10,2	16,8

Примечание: A — помутнение, пристеночный рост; A₁ — бактериальная муть, бактериальная пленка, бактериальный осадок; A₂ — то же, нефть эмульгирована.

представляющие собой мелкие, палочковидные, прямые и изогнутые клетки, одиночные, в парах, цепочках, конгломератах.

Физиолого-биохимические свойства. Поскольку количество микроорганизмов перифитона аквариальной системы превышало численность водной микрофлоры, требовало проверки предположение, что активность процесса деструкции органического вещества в искусственных системах также перенесена на твердую поверхность. Тестом для определения способности использовать различные углеводороды нефти и нефтепродуктов в качестве единственного источника углерода и энергии служили нефти Ромашкинская и Малгобекская.

Изучение отношения микроорганизмов аквариальной системы к различным источникам углерода показало, что число водных культур нефтеокисляющей группы, осуществляющей трансформацию углеводородов нефти, составило 51,7—58,6%. Нефть и нефтепродукты способны использовать 7,3—34,8% гетеротрофных бактерий (табл. 2). При этом следует отметить, что рост бактерий на предложенных нефтях сопровождался чаще всего лишь помутнением среды.

В целом процент культур перифитонных бактерий, давших рост на углеводородах нефти с образованием мути и бактериальной пленки, сравнительно выше (56—69%): 38,4% вызывали опалесценцию, 34,6% образовывали пристеночный рост и вызывали помутнение; наиболее активные семь культур (27%) образовывали в пробирках муть, бактериальную пленку, опадающую в осадок. Наблюдалась характерная изъеденность краевых участков нефтяной поверхности и уменьшение площади поверхности пятна до полного его исчезновения. Наиболее интенсивно подвергалась воздействию микроорганизмов по сравнению с Малгобекской более парафинистая Ромашкинская нефть.

Кроме того, представляло важным дать сравнительный анализ некоторых физиолого-биохимических свойств микроорганизмов водной микрофлоры и перифитона (табл. 3). Культуры углеводородокисляющих бактерий, выделенные из воды и способные пептонизировать молоко, составили 45,5%. Гетеротрофы протеолиз белка молока осуществляли менее активно (34%). Процент культур водной микрофлоры, способных осуществлять протеолиз белков молока, примерно одинаков в системах, различных по степени загрязнения.

Нефтеокисляющие микроорганизмы, выделенные из перифитона, подщелачивание среды вызывали 84,6%, а полную пептонизацию молока — 23%. Сравнительно высокий процент культур перифитона, вызывающих протеолиз белков молока с подщелачиванием среды, по-видимому, связан с высокой удельной щелочностью воды в аквариальной системе.

Предложенные в опыте углеводы могли использовать 30% всех выделенных водных культур углеводородокисляющих бактерий. Углеводородокисляющие микроорганизмы, сбраживающие сахара с образованием кислоты, достигали 31—39%. Процент культур гетеротрофных бактерий, вызывающих трансформацию сахаров с образованием кислоты, выше по сравнению с нефтеокисляющими (56—60%).

Таблица 3. Некоторые биохимические свойства культур, выделенных из аквариальной системы (в % к общему числу культур)

Свойства культур	Вода		Перифитон
	Нефтеоокисляющие бактерии	Гетеротрофные бактерии	Нефтеоокисляющие бактерии
Подкисление пептонной воды с глюкозой	36,4	56,6	15,3
Гидролиз жира	68,2	43,5	42,4
Пептонизация белков молока	45,5	32,6	23,0
Подщелачивание белков молока	50,0	30,4	84,6

Довольно высокий процент культур-кислотообразователей из числа гетеротрофов объясняется способностью их окислять более доступную бактериальным ферментам легкоусвояемую органику — углеводы.

Использовать углеводы могло большинство культур нефтеоокисляющей группы, выделенных из перифитона. Из испытанных углеводов легче трансформировалась глюкоза — ее разлагали 38,5% культур. Однако активный процесс, сопровождающийся интенсивным кислотообразованием в средах с глюкозой, осуществляли лишь 15% культур, а с лактозой — 7,7%. Это согласуется с литературными данными, полученными для гетеротрофов и нефтеоокисляющих микроорганизмов [8, 9]. Наиболее часто эта функция отмечалась у микроорганизмов, выделенных на выходе из экспериментального аквариума, с наиболее высоким содержанием нефти.

Микрофлора аквариальной системы, в особенности нефтеоокисляющая, обладала высокой липолитической активностью. Гидролиз жира осуществляли от 65 до 68% культур углеводородоокисляющей группы водных бактерий. Гетеротрофы, обладающие липолитической активностью, составили 43,5%.

Сравнивая данные по трансформации жиров водными микроорганизмами, выделенными из аквариальной системы, следует заметить, что углеводородоокисляющая группа обладала лучшей липолитической активностью в отличие от гетеротрофной.

Липолитическая активность нефтеоокисляющих культур перифитона по сравнению с водной микрофлорой выражена слабее. Гидролиз жира осуществляли 42% культур, подвергшихся выявлению этих свойств.

Способность микроорганизмов искусственных систем к окислению углеводов, белков, липидов свидетельствует о возможности разложения соответствующих субстратов в условиях морских хозяйств.

Выводы. Определена численность нефтеоокисляющих бактерий, выделенных из воды и перифитона аквариальной системы, которая составила $10-10^3$ кл/мл и $2,0 \cdot 10^3-2,0 \cdot 10^5$ кл/см² соответственно.

В микроценозах аквариальной системы встречались представители родов *Pseudobacterium*, *Pseudomonas*, *Bacterium*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Sarcina*, *Spirillum*.

Сравнительное исследование физиолого-биохимических свойств бактерий воды и перифитона показало, что процент культур, осуществляющих трансформацию углеводов нефти, выше у микроорганизмов перифитона (58,6 и 69% соответственно).

1. Винберг Г. Г. Обшегидробиологическая основа санитарно-гидробиологических исследований. — В кн.: Биологическое самоочищение и формирование качества воды. М.: Наука, 1975, с. 5—8.
2. Горбенко Ю. А. Экология морских микроорганизмов перифитона. — Киев: Наук. думка, 1977. — 252 с.
3. Дзюбан Н. А., Кузнецова С. П. Зоопланктон как показатель загрязнения водохранилищ. — Гидробиол. журн., 1978, 14, № 6, с. 42—46.
4. Карзинкин Г. С. К изучению бактериального перифитона. — Тр. Лимнол. ст. Косино, 1934, вып. 17, с. 21—45.

5. Крисс А. Е. Морская микробиология (глубоководная). — Л.: Изд-во АН СССР, 1959. — 453 с.
6. Миронов О. Г. Микроорганизмы, растущие на углеводородах из Черного моря. — Микробиология, 1969, 38, № 4, с. 728.
7. Миронов О. Г. Естественное содержание углеводородов в морской воде и вопросы индикации нефтяного загрязнения. — В кн.: Биологические ресурсы моря и нефтяное загрязнение. М.: Пищ. пром-сть, 1972, с. 18—25.
8. Самоочищение прибрежной акватории Черного моря / О. Г. Миронов, Л. Н. Кирюхина, М. И. Кучеренко, Э. П. Тархова. — Киев: Наук. думка, 1975. — 137 с.
9. Тархова Э. П. К вопросу о микрофлоре морских нефтесодержащих сточных вод. — Биология моря, Киев, 1979, вып. 50, с. 78—82.
10. Bergey's M. Determinative bacteriology. — Baltimore: Williams and Wilkins comp., 1957. — 1094 p.
11. Brock T. D. Microbial growth rates in nature. — Bact. Rev., 1971, 35, p. 39—58.
12. Paeri Hans W. Microbial attachment to particles in marine and frechtwater ecosystems. — Microbiol. Ecol., 1975, 2, N 1, p. 73—83.

Ин-т биологии юж. морей

им. А. О. Ковалевского АН УССР, Севастополь

Получено 30.05.83

E. P. TARKHOVA, L. Ya. TATARENKO

HETEROTROPHIC AND OIL-OXIDIZING MICROORGANISMS IN ARTIFICIAL SYSTEMS

Summary

The quantity and generic belonging of microorganisms in the water and periphyton of the artificial system are determined. The physiological and biochemical properties of the hydrocarbon-oxidizing bacteria in the water and periphyton of the system under study are compared. It is established that the percentage of cultures transforming oil hydrocarbons is higher in periphyton bacteria.

УДК 557.472:591.145.2:632.95.024 (26)

А. И. ТАНЕЕВА

ТОКСИЧНОСТЬ 10-ХЛОРФЕНОКСАРСИНА ДЛЯ MYTILUS GALLOPROVINCIALIS

С исследованием токсикологии ядов тесно связаны вопросы кумуляции и адаптации. В результате взаимодействия химических веществ с организмом возникают два различных положения — повреждающий эффект и приспособительная реакция организма, развившаяся в ходе эволюции как защитная реакция на изменение состава водной среды.

В зависимости от концентрации и времени воздействия повреждающего агента наступает или накопление элементов «полома» и вследствие этого развитие стойких патологических явлений, или приспособление организма к жизни в измененных условиях без заметных нарушений. В первом варианте развившаяся кумуляция при глубоком нарушении процессов адаптации приводит организм к болезни, а затем и к гибели. Во втором жизнеспособность организма сохраняется в рамках физиологических норм в течение продолжительного времени.

Изучение процессов кумуляции и адаптации имеет важное значение для гигиенического нормирования химических веществ, входящих в состав противообрастающих красок. Одной из важных задач предотвращения загрязнения водной среды является установление потенциальной опасности средств защиты судов от обрастания. Реальная и потенциальная опасность ядов состоит в их способности обуславливать хронические отравления у организмов обрастания и в большей степени у промысловых гидробионтов.

Известно, что промысловые организмы являются функциональным компонентом морских экосистем, в которых завершается цикл миграций токсикантов по пищевой цепи. В связи с этим представляло интерес изучение кумулятивных свойств мышьяко-органического соединения —