

Академик НАН Украины Ю. П. Зайцев, академик НАН Украины Г. Г. Поликарпов, член-корреспондент НАН Украины В. Н. Егоров, С. Б. Гулин, Н. И. Копытина, А. В. Курилов, Д. А. Нестерова, Л. М. Нидзвецкая, И. Г. Поликарпов, Н. А. Стокозов, Н. Г. Теплинская, Л. М. Теренко

Биологическое разнообразие оксибионтов (в виде жизнеспособных спор) и анаэробов в донных осадках сероводородной батииали Черного моря

From the bottom sediments of the Dnieper river palaeodelta in the north-western Black Sea at a depth of 730 m, cultures of heterotrophic bacteria (including oil oxidizing forms) and colliform bacteria, unicellular algae (Bacillariophyta, Pyrophyta, Chlorophyta, Cyanophyta, Chrysophyta, Silicoflagellata), and higher fungi (Ascomycota and Anamorphic fungi) are obtained. No living invertebrates are found.

В донных осадках черноморской батииали на глубинах от 800 до 2100 м обнаружены споры организмов-оксибионтов, из которых впервые были получены живые культуры различных видов бактерий, грибов и одноклеточных водорослей, обитающих в верхней кислородной зоне [1]. На этом основании авторы пришли к заключению, что дно сероводородной области Черного моря наряду с останками беспозвоночных, выпавших из верхних аэрированных слоев пелагиали, включает в себя “банк спор” оксибионтов, способных прорасти и развиваться при перенесении их в кислородную среду.

Дальнейшим шагом в этой поисковой работе стало изучение отдельных специфических районов черноморской батииали, а именно палеодельты Днепра. В нашу задачу входило наряду с определением встречающихся видов сравнение видового разнообразия всех форм жизни в поверхностном (0–1,5 см) и подповерхностном (1,5–5,0 см) слоях сероводородной батииали указанной палеодельты.

Палеодельта Днепра, расположенная на склоне северо-западного шельфа Черного моря, находится в зоне выпадения терригенных и биогенных отложений, формирующихся на главном шельфе моря. С гидрологической точки зрения, данная акватория характеризуется повышенной гидродинамической активностью. Известно, что над материковым склоном северо-западной части моря проходит Основное черноморское течение [2]. Его активное меандрирование в изучаемом районе приводит к преимущественно антициклонической завихренности потока с нисходящими движениями вод вплоть до формирования квазистационарного антициклонического круговорота [2–4]. Кроме того, поступление в этот район холодных вод северо-западной части моря в зимнее время обеспечивает дополнительную более активную вентиляцию глубинных вод, по сравнению с другими частями моря. Возможность так называемого “стекания” придонных вод в этом районе по данным гидрологического разреза, выполненного летом 2004 г., показана в работе [5]. В придонном слое в диапазоне глубин 100–200 м и, менее выражено, до 500 м наблюдалось заглубление изопикнических поверхностей вблизи их контакта с материковым склоном.

Пробы грунта были отобраны 18 февраля 2007 г. с борта НИС “Meteor” (Германия) с помощью колоночного пробоотборника подводного телеробота QUEST-4000 на глубине

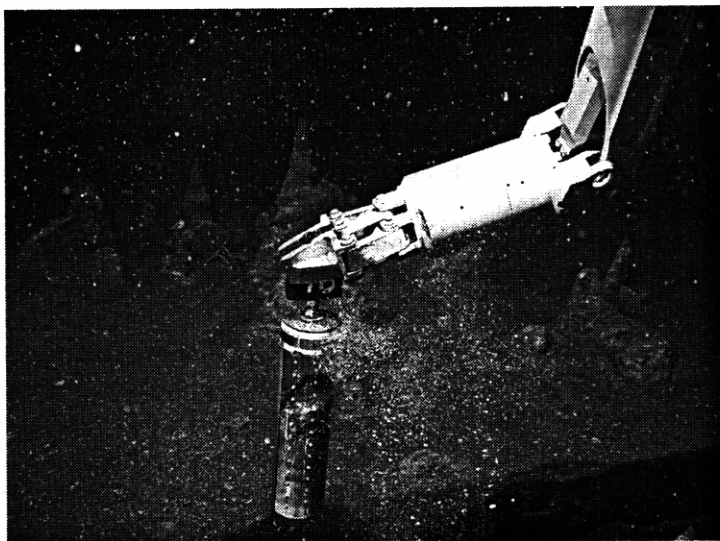


Рис. 1. Отбор донных отложений в батиали Адриатического моря колоночным пробоотборником подводного телеробота QUEST-4000

730 м в точке с координатами $44^{\circ}42,060'$ с. ш. и $32^{\circ}08,831'$ в. д., определенными с использованием высокоточной системы подводной навигации Poseidonia. Данная станция находится в 80 км от мыса Тарханкут, 100 км от мыса Херсонес и 190 км от дельты Дуная и расположена в поле бактериальных карбонатных построек, образованных метанооксиляющими археобактериями в местах выходов природного газа из морского дна [6, 7].

До погружения телеробота его пробоотборники были тщательно промыты дистиллированной водой, продезинфицированы этиловым спиртом и помещены в специальный контейнер, открываемый с помощью гидравлического манипулятора непосредственно перед началом отбора проб донных осадков. Момент отбора пробы и расположенные рядом бактериальные постройки показаны на рис. 1. Температура и соленость придонной воды, измеренные гидрологическим зондом телеробота QUEST-4000, составили $8,8525^{\circ}\text{C}$ и $22,1781\text{‰}$ соответственно. Из отобранной колонки донных осадков были получены образцы ила из слоев 0–1,5 см и 1,5–5,0 см. Выполненная ранее радиоизотопная датировка донных отложений показала, что скорость осадконакопления в данном районе составляет 1–2 мм/год [8]. Это означает, что возраст верхнего 1,5-см слоя рассматриваемых донных отложений должен лежать в пределах от 7,5 до 15 лет, а всего 5-см слоя — от 25 до 50 лет.

Лабораторная обработка проб с применением методов, описанных в работе [1], дала следующие результаты.

Бактерии. Гетеротрофные бактерии обнаружены как в верхнем (0–1,5 см), так и в нижнем (1,5–5 см) слоях грунта, однако в верхнем слое их было в два раза больше. В целом, гетеротрофных бактерий оказалось на 2–3 порядка меньше по сравнению с пробами из больших глубин батиали [1]. Соответственно проведенной идентификации по определителю Берги [9] изолированные штаммы бактерий были отнесены к родам *Bacillus* (60%), *Lactobacillus* (32%), *Listeria* (4%) и, возможно, *Oscillospira* (4%).

Также несколько меньше, чем в предыдущих пробах, обнаружено бактерий из группы кишечной палочки — от 15 до 50 тыс. клеток/г. Однако и эти количества на 2–3 порядка превышают допустимые нормы микробного загрязнения моря в местах водопользования населением, принятые у нас в стране и за рубежом [10, 11].

В отличие от гетеротрофов, количество нефтеокисляющих бактерий (НОБ) было существенно выше в нижнем слое грунта. При инкубации в анаэробных условиях количество НОБ составляло 90 и 450 тыс. клеток/г соответственно. Такой характер вертикального распределения этой индикаторной группы микроорганизмов свидетельствует об увеличении концентрации нефтяных углеводородов по мере углубления в грунт. Весьма любопытно, что пробы грунта, отобранные в том же районе в январе 1995 г. на глубине 1150 м [12], обнаружили аналогичную тенденцию вертикального распределения НОБ (табл. 1).

В литературе высказывается мнение, что НОБ зачастую сопутствуют метанообразующие бактерии [13].

Одноклеточные водоросли. Как и в предыдущих опытах, споры микрофитов прорастали постепенно. В начале эксперимента (23.03.07) обнаруживались лишь пустые створки, споры диатомовых (*Chaetoceros*) и цисты динофитовых. В первых числах апреля появились живые клетки *Emiliana huxleyi* (*Chrysophyta*), в середине апреля — клетки *Chaetoceros* (*Bacillariophyta*). Во второй половине мая в культуре появились красные пятна, образованные колониями мелких синезеленых (*Cyanophyta*) с диаметром клеток около 1 мкм. Эти виды пикопланктона не идентифицированы. Также в мае появились живые клетки пресноводной синезеленой водоросли *Anabaena spiroides* и ее гетероцисты на стадии деления.

В нижнем слое грунта одноклеточные водоросли стали прорастать на две недели позже, чем в верхнем слое, а их видовое разнообразие было в два раза ниже, чем в верхнем (табл. 2).

Таблица 1. Вертикальное распределение нефтеокисляющих бактерий в грунте в районе палеodelьты Днепра [12]

Глубина, см	Количество клеток, экз/г
1–3, проба № 1	250
1–3, проба № 2	450
22–28	750
44–54	11000
62–75	14000

Таблица 2. Результаты выращивания одноклеточных водорослей из спор, собранных в грунте на станции “Батиль-2”

Таксон	Слой грунта, см	
	0–1,5	1,5–5
Споры <i>Chaetoceros</i> (<i>Bacillariophyta</i>)	+	–
<i>Chaetoceros</i> (<i>Bacillariophyta</i>)	+	+
<i>Peridinium</i> sp. (<i>Dinophyta</i>)	+	–
<i>Pterosperma cristatum</i> (<i>Chlorophyta</i>)	+	–
<i>Monoraphidium arcuatum</i> (<i>Chlorophyta</i>)	+	–
<i>Distephanus speculum</i> (<i>Silicoflagellata</i>)	+	–
<i>Emiliana huxleyi</i> (<i>Chrysophyta</i>)	+	+
<i>Pseudopedinella pyriforme</i> (<i>Chrysophyta</i>)	+	–
<i>Gleocapsa</i> sp. (<i>Cyanophyta</i>)	+	+
<i>Oscillatoria</i> sp. (<i>Cyanophyta</i>)	+	+
<i>Anabaena spiroides</i> (<i>Cyanophyta</i>)	+	+
<i>Aphanotece</i> sp.	–	+
Гетероцисты <i>Anabaena spiroides</i> (<i>Cyanophyta</i>)	+	–
Мелкие синезеленые (пикопланктон)	+	+

Примечание. (+) — присутствие, (–) — отсутствие.

Грибы. Из верхнего слоя грунта выделено семь видов высших грибов, из нижнего — четыре вида. Рост наблюдался в 21 чашке из 24, что служит высоким показателем всхожести спор грибов из данного района сероводородной батиали Черного моря. Инкубирование проводилось при температурах 4–5 и 22–24 °С. Из семи видов грибов лишь два вида встречались в прежних сборах [1]. Все семь видов — убиквисты, а четыре из них способны окислять нефтепродукты (табл. 3).

Отметим, что на данном этапе исследований, как и ранее [1], не было случаев нахождения живых животных и живых растений в изучаемой сероводородной батиали.

Научная новизна результатов обработки проб из палеодельты Днепра не менее существенна, чем в предыдущем случае [1]. Больше оказалось видов пресноводного происхождения. Среди водорослей это синезеленые родов *Gleocapsa*, *Oscillatoria*, *Monoraphidium*, *Anabaena*, а среди грибов лишь *Arenariomyces trifurcatus* считается облигатно морским видом, остальные обитают также в пресных водах. Обилие видов, обычных и для пресных вод, связано, очевидно, с близостью северо-западного шельфа, находящегося под влиянием трех крупных рек. При этом, в принципе, не исключено, что в палеодельту Днепра попали гидробионты также из современной дельты этой реки.

Не исключительно теоретический, а скорее более перспективный интерес в практическом отношении представляют полученные данные о нефтеокисляющих организмах из числа бактерий и грибов. Показательно, что образцы грунта, взятые 12 лет тому назад практически в одном и том же районе, обнаруживают сходную тенденцию увеличения численности НОБ с глубиной. Из этого следует, что данный район — явно перспективный для поиска горючих ископаемых. Очевидно, морским геологам об этом известно, а наши данные служат биологическим подтверждением.

Исходя из полученных нами материалов, можно сделать первые предварительные выводы о биологическом разнообразии видов оксибионтов (их покоящихся стадий) и автохтонных анаэробов в изученном районе сероводородной батиали Черного моря:

в специфических условиях сероводородной батиали Черного моря сохраняются и не теряют способности к развитию те представители оксибионтных бактерий, а также грибов

Таблица 3. Высшие грибы, выращенные из спор, собранных в грунте на глубине 730 м в районе палеодельты Днепра

Таксон	Слой 0–1,5 см				Слой 1,5–5 см			
	4–5 °С		22–24 °С		4–5 °С		22–24 °С	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Отдел Ascomycota								
<i>Chaetomium globosum</i> (НО)	–	–	–	+	–	–	–	+
<i>C. murorum</i> (НО)	–	–	–	+	–	–	–	+
<i>Ascomycetes</i> g. sp. 1	–	–	+	+	–	–	–	–
<i>Ascomycetes</i> g. sp. 2	–	–	+	+	–	–	–	–
Формальная группа Anamorphic Fungi (Mitosporic, Deuterpmycotina, Deuterpmycetes, или Fungi Imperfecti)								
<i>Aspergillus</i> sp. (НО)	–	–	–	+	–	–	–	–
<i>Penicillium</i> sp.* (НО)	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Stachybotrys chartarum</i> *	–	+	+	–	+	–	–	–

Примечание. I, II — питательная среда; (+) — положительный результат; (–) — отрицательный результат; НО — виды, способные окислять нефтепродукты, * — виды, обнаруженные в предыдущих пробах из сероводородной батиали Черного моря [1].

и одноклеточных водорослей, которые оказались жизнеспособными в слое 1,5–5,0 см. Они “ожидали” своего благополучного возвращения в кислородную среду (в лабораторных условиях Одесского филиала Института биологии южных морей им. А. О. Ковалевского НАН Украины) максимально от четверти века до полувека;

бактерии представлены различными физиологическими группами, в том числе нефтеокисляющими, бактериями группы кишечной палочки и способными образовывать споры видами родов *Bacillus* и *Lactobacillus*;

на поверхности слоя осадков древнейшие анаэробные предмикробиоты археи *Archaea* [14] формируют кораллоподобные карбонатные “постройки” (см. рис. 1) по пути следования метановых пузырьков;

среди грибов обнаружены и выращены представители отдела Ascomycota и формальной группы Anamorphic Fungi;

выращенные из спор одноклеточные водоросли принадлежат к отделам Bacillariophyta, Dinophyta, Chlorophyta, Cyanophyta, Chrysophyta и Silicoflagellata;

обращает на себя внимание требующий дальнейшего исследования и объяснения факт нахождения жизнеспособных спор синезеленых водорослей *Aphanocapsa salina* и *Pseudanabaena limnetica* только в нижнем ярусе грунта. Возможно, поступление спор этих видов прекратилось по каким-то океанологическим причинам в новейшее время;

количество идентифицированных видов одноклеточных водорослей (14) распределяется следующим образом: Bacillariophyta — 3, Dinophyta — 1, Chlorophyta — 2, Cyanophyta — 5, Chrysophyta — 2, Silicoflagellata — 1;

среди выращенных культур водорослей имелись различные по своему происхождению виды, а именно морские, пресноводные и убиквисты. К морским видам относятся диатомовые — *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros* sp., динофитовые — *Peridinium* sp., кремнегугитовые — *Distephanus speculum*, кокколитофориды — *Emiliania huxleyi*, зеленые — *Pterosperma cristatum*. К водорослям пресноводного происхождения относятся синезеленые *Anabaena spiroides*, *Gleocapsa* sp., *Oscillatoria* sp., зеленые — *Monoraphidium arquatum*.

1. Зайцев Ю. П., Поликарпов Г. Г., Егоров В. Н., Александров Б. Г., Гаркуша О. П., Копытина Н. И., Курилов А. В., Нестерова Д. А., Нидзвецкая Л. М., Никонова С. Е., Поликарпов И. Г., Поповичев В. И., Руснак Е. М., Стокозов Н. А., Теплинская Н. Г., Теренько Л. М. Средоточие останков оксифитов и банк живых спор высших грибов и диатомовых в донных отложениях сероводородной батии Черного моря // Доп. НАН України. – 2007. – № 7. – С. 159–164.
2. Блатов А. С., Булгаков Н. П., Иванов В. А., Косарев А. Н., Тузилкин В. С. Изменчивость гидрофизических полей Черного моря. – Ленинград: Гидрометеиздат, 1984. – 238 с.
3. Блатов А. С., Иванов В. А. Гидрология и гидродинамика шельфовой зоны Черного моря. – Киев: Наук. думка, 1992. – 244 с.
4. Stanev E. V., Beckers J. M., Lancelot C. et al. Coastal-open Ocean Exchange in the Black Sea: Observation and Modelling // J. Estuarine, Coastal and Shelf Science. – 2002. – 54, No 3. – P. 601–620.
5. Stokozov N. A., Artemov Yu. G. Oceanographic properties of the NW Black Sea water column and diffusion one-dimensional model to fluxes of dissolved methane // Proc. International Workshop “Methane in sediments and water column of the Black Sea: Formation, transport, pathways and the role within the carbon cycle”, Sevastopol, Ukraine, 17–23 May, 2005. – Sevastopol, 2005. – P. 54–55.
6. Егоров В. Н., Поликарпов Г. Г., Гулин С. Б., Артемов Ю. Г., Стокозов Н. А., Костова С. К. Современные представления о средообразующей и экологической роли струйных метановых газовыделений со дна Черного моря // Мор. экологич. журн. – 2003. – Вып. 2, № 3. – С. 5–26.
7. Polikarpov G. G., Egorov V. N., Gulín S. B., Artemov Y. G., Stokozov N. A., Kostova S. K. Environmental and ecological role of methane gas bubble streams in the anoxic depths (1989. – 2003) // 30th Pacem in Maribus. A Year After Johannesburg. Ocean Governance And Sustainable Development: Ocean And Coasts – A Glimse Into The Future, Kiev, Ukraine, 27–30 Oct., 2003. – Kiev, 2003. – P. 538–545.

8. *Gulin S. B., Polikarpov G. G., Egorov V. N., Martin J.-M., Korotkov A. A., Stokozov N. A.* Radioactive contamination of the north-western Black Sea sediments // *J. Estuarine, Coastal and Shelf Science*. – 2002. – **54**, No 3. – P. 541–549.
9. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. – 9th ed. – Baltimore; London, 1986. – Vol. 2. – 1599 p.
10. *Boaden P. J. S., Seed R.* An Introduction to Coastal Ecology. – Glasgow; London: Blackie, 1985. – 218 p.
11. Санитарные правила и нормы охраны прибрежных вод морей от загрязнения в местах водопользования. Сан-Пин 46–88. – Москва: Минздрав СССР, 1988.
12. *Теплинская Н. Г.* Микробная трансформация биогенных элементов в сапропелевых илах Каламитского залива Черного моря // *Мікробіол. журн.* – 2007. – **69**, № 5. – С. 3–9.
13. *Иванов М. В.* Распространение и геохимическая деятельность бактерий в осадках океана. Химия океана. – Москва: Наука, 1979. – Т. 2. – С. 312–349.
14. *Boetius A., Revenschlag K., Schubert C. J. et al.* A marine microbial consortium apparently mediating anaerobic oxidation of methane // *Nature*. – 2000. – **407**. – P. 623–626.

Інститут біології южних морей
 ім. А. О. Ковалевського НАН України, Севастополь
 Одеський філіал Інституту біології южних морей
 ім. А. О. Ковалевського НАН України

Поступило в редакцію 19.12.2007