

## **ИНДИКАТОРНЫЕ ГРУППЫ ГЕТЕРОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИБРЕЖНЫХ ВОД ЗАЛИВА АНИВА (пос. ПРИГОРОДНОЕ)**

**А. В. Полтева**

**Сахалинский научно-исследовательский институт  
рыбного хозяйства и океанографии (Южно-Сахалинск)**

Приводимые в статье данные являются результатом проведенных в 2003 г. исследований индикаторной микрофлоры прибрежных вод в районе строительства завода по сжижению газа (СПГ) в заливе Анива в рамках отраслевой программы мониторинга водных биоресурсов и среды их обитания. Получение фоновых характеристик перед началом строительства – необходимое звено в ряду наблюдений за изменением состояния среды. Комплексный подход решения этой задачи предполагает использование различных методов оценки состояния среды. Одним из таковых является метод микробной индикации, основной постулат которого заключается в том, что микроорганизм, адаптируясь к конкретному поллютанту, своей численностью отвечает на его концентрацию. Так, в качестве индикаторов загрязнения вод нефтью рассматриваются показатели численности и состава нефтеокисляющих бактерий, фенолом – число бактерий фенол-деструкторов (Димитриева, 1995; Динамика экосистем..., 2000). Загрязнение тяжелыми металлами выявляют с помощью численности металлоустойчивых микроорганизмов (Димитриева, Безвербная, 2002). О степени евтрофикации водоемов судят по численности гетеротрофных микроорганизмов, использующих легкоокисляемые органические вещества (Микроорганизмы..., 2000).

Целью данной работы являлось изучение сезонной динамики численности и распределения двух групп индикаторных микроорганизмов: сапрофитных гетеротрофных и фенолоксиляющих в прибрежных водах залива Анива (район строительства завода СПГ в пос. Пригородное). Параллельно велось изучение нефтеокисляющей микрофлоры. Эта группа индикаторных микроорганизмов описана в статье В. О. Каськовой с соавторами в настоящем сборнике.

### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА**

Пробы воды для определения наиболее вероятной численности (НВЧ) сапрофитных гетеротрофных и фенолоксиляющих микроорганизмов отбирали в августе, октябре, ноябре 2003 г. на пяти станциях (2, 5, 6, 13, 15). Схема станций отбора представлена на рисунке 1 в статье В. О. Каськовой с соавторами в

настоящем сборнике. Отбор проб воды для микробиологических исследований вели в поверхностных горизонтах фторопластовыми пробоотборниками со стерильными стеклянными емкостями объемом 1 л, на заданных глубинах – проточными пластиковыми батометрами, стерилизованными (96-градусным спиртом). Из батометров воду отбирали одноразовыми пластиковыми шприцами объемом 20 мл в двухкратной повторности. Отобранные пробы хранили до момента исследований в термоконтейнерах со льдом.

Для определения наиболее вероятной численности (НВЧ) сапрофитных и фенолоксиляющих микроорганизмов использовали метод предельных разведений, при котором посев определенного объема (0,5 мл) исходной пробы морской воды производился в три ряда параллельных пробирок с соответствующей жидкой средой. Для определения НВЧ гетеротрофных сапрофитных микроорганизмов в качестве питательной среды использовали стандартный рыбо-пептонный бульон (РПБ), разбавленный в 10 раз морской водой из исследуемого водоема; для фенолрезистентных микроорганизмов использовалась синтетическая морская калиево-дрожжевая среда (МКД) с добавлением фенола в концентрации 0,1%. Инкубацию микроорганизмов вели при комнатной температуре от 3 до 7–10–14 суток, в зависимости от интенсивности роста микробных форм. Обработку полученных результатов роста микроорганизмов в жидких средах вели с использованием статистических таблиц Мак-Креди. Наиболее вероятное число бактерий выражали числом клеток в 1 мл (Руководство..., 1980).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В структуре микробиологического мониторинга среди индикаторных групп, как правило, основное место отводится сапрофитным микроорганизмам. Сапрофиты являются общепризнанным индикатором уровня содержания органического вещества. Поэтому изменение численности сапрофитов служит показателем как качества вод, так и уровня их трофности. Согласно литературным данным, распределение сапрофитных бактерий в воде крайне неравномерно и зависит от многих факторов окружающей среды (содержание биогенных элементов, температура, соленость, глубина отбора проб и т. д.). Численность этой группы гетеротрофного микробного сообщества морей и океанов колеблется в различных пределах, изменяясь по сезонам, глубинам. Так, в летние сезоны 1984, 1988, 1993 гг. в холодноводных Беринговом и Чукотском морях НВЧ сапрофитной группы лежала в пределах от нескольких десятков клеток до нескольких тысяч (Динамика экосистем..., 2000). Большая плотность сапрофитов указывается для южной части Персидского залива – до 10 млн. кл./мл. В Карибском, Аральском морях и внутренних морях Японии численность этой группы гетеротрофов достигает 10,7 тыс. кл./мл, в Азовском море – 99 тыс. кл./мл (Новожилова и др., 1985; Салманов, 1987; Мицкевич и др., 1990; Студеникина и др., 2002).

В результате проведенных исследований морской воды в августе, октябре, декабре 2003 г. в заливе Анива нами получены следующие результаты.

В районе строительства причала достаточно высокие значения НВЧ сапрофитной микрофлоры были отмечены в августе. В пробах воды со станций 6 и 2, расположенных в непосредственной близости от берега, значения численности этой индикаторной группы в поверхностных слоях достигали несколь-

ких сотен тысяч в 1 мл, снижаясь на порядок на глубине 10 м. По мере удаления станций от берега наблюдалось снижение численности сапрофитной гетеротрофной микрофлоры как в поверхностном слое, так и на глубинах. В поверхностном слое НВЧ сапрофитов составляла от 4,5 до 250 тыс. кл./мл, на глубинах 10–30 м резко падала до нескольких десятков клеток (рис. 1а).

Проведенные нами летом 2002 г. исследования вод северо-восточного шельфа Сахалина показали, что наиболее вероятная численность сапрофитных гетеротрофных бактерий в прибрежной зоне на глубинах до 30 м колебалась от нескольких десятков до тысяч клеток в 1 мл и составила в среднем в придонном слое 395,8 кл./мл, в слое температурного скачка – 2400 кл./мл, в приповерхностном слое – 1558,3 кл./мл.

Поскольку численность сапрофитов является индикатором свежеступившего органического вещества, можно полагать, что основной причиной высоких значений НВЧ сапрофитной гетеротрофной микрофлоры в пробах воды с прибрежных станций является береговой сток, несущий значительные количества органического вещества.

Показатели численности сапрофитной группы порядка сотен тысяч клеток на 1 мл соответствуют  $\alpha$ -мезосапробным водам по классификациям для пресных вод (ГОСТ 17.1.2.04-77, 1977; Амбразене, 1984; Микроорганизмы..., 2000). Такие воды характеризуются интенсивной деструкцией органических веществ, о чем говорит высокая численность сапрофитов, и низкими значениями растворенного кислорода в воде. Аналогичные условия были в августе в поверхностных слоях исследованной части морской акватории: высокие значения НВЧ сапрофитов и невысокие значения растворенного кислорода – 4,25–5,19 мл/дм<sup>3</sup> для поверхностных слоев.

В октябре в районе строительства причала, несмотря на понижение температуры воды, снижения численности сапрофитной гетеротрофной микрофлоры не наблюдалось. Этому способствовали и более значительное влияние по сравнению с августом терригенного стока, и равномерное распределение биогенных элементов в результате прогрева толщи воды. Значения НВЧ сапрофитной группы колебались от нескольких сотен до нескольких сотен тысяч клеток в 1 мл и составляли в среднем 185 тыс. кл./мл. Снижение численности этой группы до значений 750–2500 кл./мл отмечалось на глубине 10 м. На глубинах 20–30 м численность оставалась в пределах сотен клеток в 1 мл (рис. 1б).

В декабре в описываемом районе также не наблюдалось заметного снижения численности сапрофитной гетеротрофной микрофлоры по сравнению с августом–октябрем 2003 г. Средняя НВЧ в приповерхностном горизонте составляла 350 тыс. кл./мл. В прибрежной зоне не происходило снижения численности и на глубинах 10 м. Заметно падали значения численности сапрофитных гетеротрофов на глубинах 20–30 м, превышая, однако, значения августа и октября. Если в августе на этих глубинах сапрофитная гетеротрофная микрофлора была представлена единицами–десятками клеток, то в декабре на станции 5 (30 м) численность сапрофитов имела значение 1150 кл./мл (рис. 1в). Поддержанию высокой численности микроорганизмов, скорее всего, способствовало распределение по всей толще воды биогенных элементов в результате активного перемешивания и регенерационных процессов, активизирующихся в осенний период.

Глубина, м

Станции

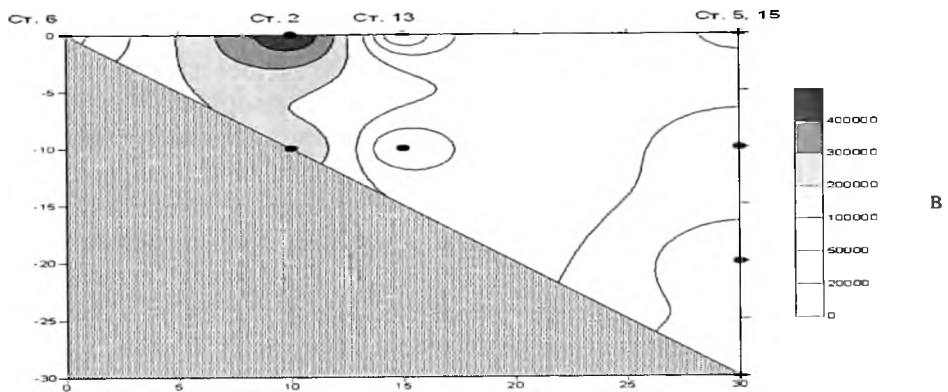
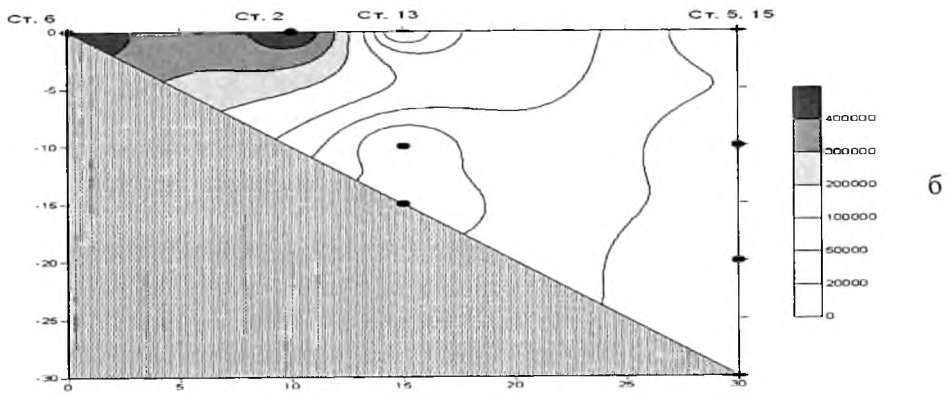
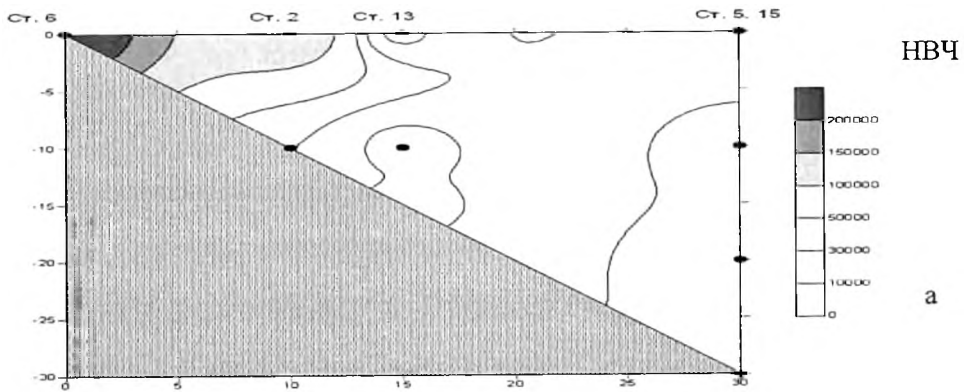


Рис. 1. Сезонное распределение наиболее вероятной численности сапротрофных гетеротрофных микроорганизмов в районе строительства причала в 2003 г. (НВЧ, кл./мл): а – август; б – октябрь; в – декабрь

Изменение численности фенолрезистентных микроорганизмов обуславливается содержанием фенольных соединений различной природы, концентрация которых в водных экосистемах изменяется по сезонам и различается по своему содержанию в поверхностных и придонных слоях воды (Саралов и др., 1979). Некоторые авторы указывают на корреляцию между численностью фенолустойчивых бактерий и превышением ПДК фенола в природных водах (Димитриева, 1995). Численность фенолрезистентных или фенолоксиляющих микроорганизмов принято использовать в качестве индикаторов загрязнения среды фенольными соединениями (Дзюбан и др., 2001). В ряде публикаций приводятся критерии оценки загрязнения водной среды фенольными соединениями по численности фенолоксиляющих микроорганизмов (Dimitrieva et al., 1997; Dimitrieva, 1999).

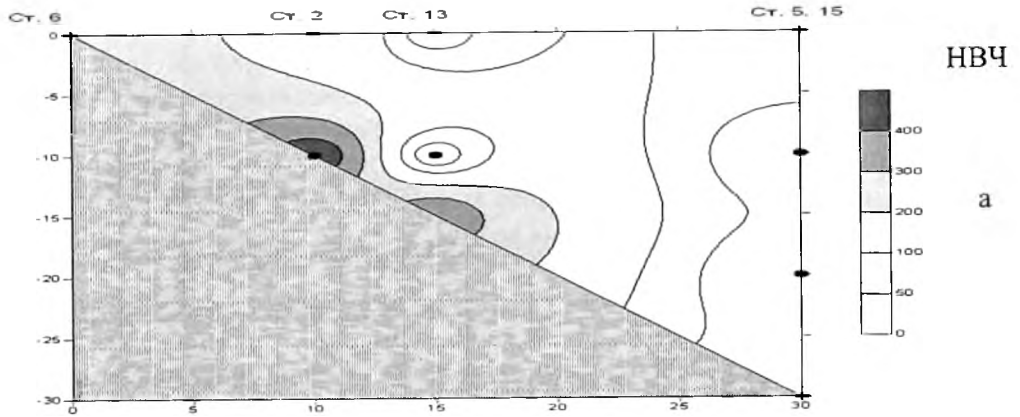
В августе численность фенолоксиляющих микроорганизмов не превышала значений 450 кл./мл. Максимум численности этой индикаторной группы был отмечен на глубине 10–15 м. Десятки–сотни клеток в 1 мл фенолоксиляющих бактерий встречались в прибрежной зоне и поверхностных слоях. На глубинах свыше 15 м обнаруживались единичные клетки (рис. 2а).

В октябре максимум фенолоксиляющих микроорганизмов был приурочен к поверхностным горизонтам. Значения НВЧ этой группы составили здесь 450 кл./мл. Заметное снижение концентрации этих микроорганизмов в воде наблюдалось с глубины 10 м. На глубинах 30 м эта группа микроорганизмов не была обнаружена (рис. 2б). Численность фенолоксиляющих микроорганизмов была ниже численности нефтеоксиляющих в десятки раз. В декабре НВЧ фенолоксиляющих микроорганизмов несколько снизилась. Максимумы численности этой индикаторной группы были отмечены в поверхностных и придонных слоях. В поверхностных слоях численность изменялась в пределах от 9 до 250 кл./мл. На станции 13 в поверхностном горизонте эта группа не была обнаружена, на глубине 10 м НВЧ составила 150 кл./мл (рис. 2в).

В точке дампинга в августе (станция 18) НВЧ сапрофитной гетеротрофной микрофлоры лежала в пределах 400–9500 кл./мл. Концентрация этой группы микроорганизмов мало изменялась как на поверхности, так и на глубинах 20, 30, 50 м. Минимальные значения НВЧ этой группы микроорганизмов отмечались на глубине 10 м (табл.). В октябре сапрофитная гетеротрофная микрофлора была многочисленной и особенно активной в поверхностных слоях – здесь численность этой группы достигала значений 75000 кл./мл. На глубинах от 10 до 50 м отмечалось снижение концентрации сапрофитных микроорганизмов до сотен клеток в 1 мл. В декабре увеличилась численность сапрофитных микроорганизмов по сравнению с августом–октябрем. Если в августе минимальные значения сапрофитной группы составляли 400 кл./мл, то в декабре они были выше на порядок – 2000 кл./мл. Максимальное значение сапрофитной группы в декабре (45 тыс. кл./мл) не превысило значений августа–октября (75 тыс. кл./мл), которое относилось к поверхностным горизонтам. Четкой тенденции в распределении сапрофитов по горизонтам не наблюдалось. В декабре десятки тысяч клеток в 1 мл сапрофитных гетеротрофов встречались не только в поверхностном слое, но и на глубинах 20 и 50 м. Так, на глубине 50 м численность составила 30 тыс. кл./мл. Минимум концентрации этой группы микроорганизмов был отмечен на глубине 10 м.

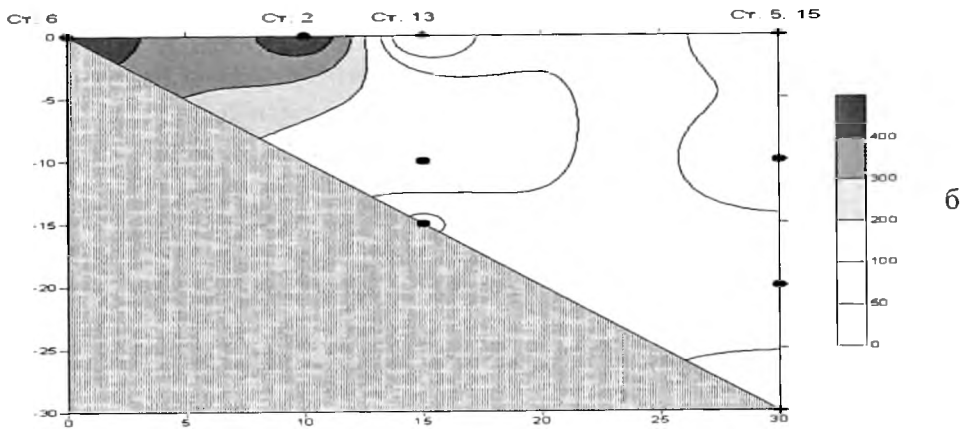
Глубина, м

Станции

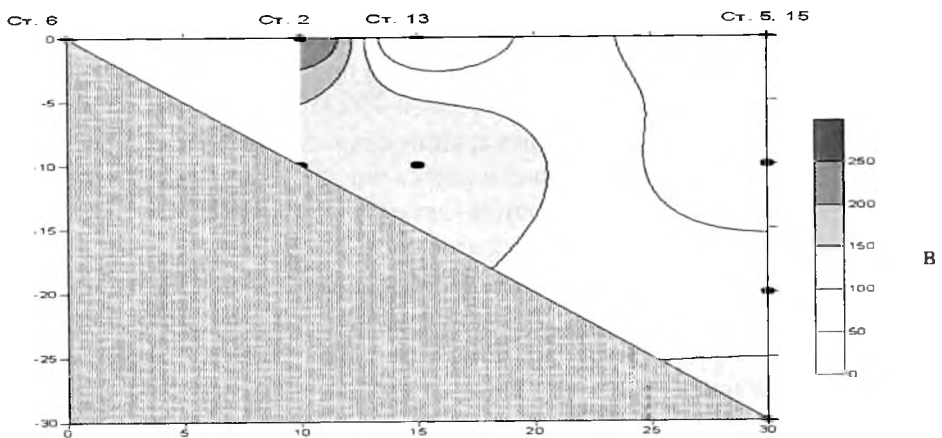


НВЧ

а



б



в

Рис. 2. Сезонное распределение наиболее вероятной численности фенолокисляющих микроорганизмов в районе строительства причала в 2003 г. (НВЧ, кл./мл): а – август; б – октябрь; в – декабрь

**Наиболее вероятная численность (НВЧ) микроорганизмов  
в районе сброса грунта в 2003 г., кл./мл**

Глубина, м	Физиологические группы микроорганизмов					
	Сапрофитные гетеротрофные			Фенолоксиляющие		
	август	октябрь	декабрь	август	октябрь	декабрь
0	9500	75000	45000	950	450	4
10	400	950	2000	4	250	25
20	2500	950	15000	15	45	9
30	2500	200	2500	25	0	20
50	4500	450	30000	15	0	200

Численность фенолоксиляющих микроорганизмов в августе максимальной была в поверхностном слое – 950 кл./мл. С глубины 10 м значения численности падали до единиц–десятков клеток в 1 мл (см. табл.). В октябре фенолоксиляющие микроорганизмы были обнаружены на глубинах 0–20 м (450–45 кл./мл соответственно). Ниже 30 м эта группа микроорганизмов отсутствовала. В декабре наблюдалось обратное августу–октябрю распределение фенолоксиляющих микроорганизмов. Максимум их численности был зарегистрирован на глубине 50 м, минимум – в поверхностном слое с низкой температурой.

Анализируя полученные результаты, можно отметить, что в районе строительства причала резких изменений численности изученных групп микроорганизмов – сапрофитных гетеротрофных, фенолоксиляющих – в исследованные сезоны не наблюдалось. Фенолоксиляющие микроорганизмы были представлены численностью от единичных клеток до нескольких сотен клеток в 1 мл. Высокие концентрации сапрофитных гетеротрофных микроорганизмов – до 450 тыс. кл./мл – регистрировались как летом, так и осенью–зимой в береговой зоне, где происходит накопление аллохтонного органического вещества, источником которого является береговой сток. В поверхностных слоях концентрация сапрофитов также достигала значений сотен тысяч клеток в 1 мл. Достаточно хороший прогрев воды и перемешивание водных масс поддерживали высокую численность сапрофитной группы и на глубине 10 м. Заметное снижение численности сапрофитов до десятков–сотен клеток в 1 мл наблюдалось на глубинах 20–30 м. Высокая численность сапрофитов в теплый сезон обуславливалась активным развитием микроорганизмов, чей температурный оптимум находился в диапазоне 15–24°C. Снижение численности этой группы микроорганизмов в холодные сезоны компенсировалось развитием той части психрофильного микробного сапрофитного сообщества, которая предпочитает температуры ниже 15°C и неактивна в теплые месяцы.

Район дампинга характеризовался высокими значениями численности сапрофитных гетеротрофных микроорганизмов как на поверхности, так и на глубинах до 50 м. Заметно ниже была численность фенолоксиляющих микроорганизмов. Максимальные плотности этой группы микроорганизмов отмечались в поверхностных слоях, с увеличением глубины численность падала до нулевых значений. Такое распределение наблюдалось в августе и октябре. В декабре максимум численности этой группы микроорганизмов был отмечен на глубине 30 м, в поверхностных слоях встречались единичные клетки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Амбразене, Ж. П. О принципах построения классификации качества поверхностных вод / Ж. П. Амбразене // Комплекс. оценки качества поверхност. вод. – Л. : Гидрометеиздат, 1984. – С. 48–60.
2. ГОСТ 17.1.2.04-77. Охрана природы. Гидросфера. Показатели состояния и правила таксации рыбохозяйственных водных объектов. – М. : Гос. ком. стандартов Совета Мин. СССР, 1977. – 18 с.
3. Дзюбан, А. Н. Микробиологические процессы в Горьковском водохранилище / А. Н. Дзюбан, Д. Б. Косолапов, И. А. Кузнецова // Вод. ресурсы. – 2001. – Т. 28, № 1. – С. 47–57.
4. Димитриева, Г. Ю. Микроорганизмы-биоиндикаторы фенольного загрязнения прибрежной морской среды / Г. Ю. Димитриева // Биология моря. – 1995. – Т. 21, № 6. – С. 407–411.
5. Димитриева, Г. Ю. Микробная индикация – эффективный инструмент для мониторинга загрязнения прибрежных морских вод тяжелыми металлами / Г. Ю. Димитриева, И. П. Безвербная // Океанология. – 2002. – Т. 42, № 3. – С. 408–415.
6. Динамика экосистем Берингова и Чукотского морей / Под ред. Ю. А. Израэль, А. В. Цыбань. – М. : Наука, 2000. – 358 с.
7. Микроорганизмы в экосистемах Приамурья / Под ред. Л. М. Кондратьевой. – Владивосток : Дальнаука, 2000. – 200 с.
8. Деструкционная активность гетеротрофных микроорганизмов в воде тропического мелководного залива Батабано (Куба) / И. Н. Мицкевич, Б. Б. Намсарев, М. Бейота и др. // Микробиология. – 1990. – Т. 59, вып. 4. – С. 666–673.
9. Новожилова, М. И. Микрофлора Аральского моря в условиях меняющегося гидрологического режима / М. И. Новожилова, Г. В. Семенченко, Н. З. Мукашев. – Алма-Ата : Наука, 1985. – 218 с.
10. Руководство по методам биологического анализа морской воды и донных отложений (временное) / Под. ред. А. В. Цыбань. – Л. : Гидрометеиздат, 1980. – 192 с.
11. Салманов, М. А. Роль микрофлоры и фитопланктона в продукционных процессах Каспийского моря / М. А. Салманов. – М. : Наука, 1987. – 215 с.
12. Саралов, А. И. Микробиологические и химические процессы деструкции органического вещества в водоемах / А. И. Саралов, М. В. Вайнштейн, А. Н. Дзюбан. – Л. : Наука, 1979. – 95 с.
13. Студеникина, Е. И. Микробиологические процессы в Азовском море в условиях антропогенного воздействия / Е. И. Студеникина, Л. И. Толоконникова, С. П. Воловик. – М. : ФГУП «Нацрыбресурсь», 2002. – 168 с.
14. Using Newly developed microbial methods for multi-factor fast estimation of quality of marine environment and its preservation from oil, phenol and biogenic pollution / G. Y. Dimitrieva, S. M. Dimitriev, O. A. Drozdovskaya et al. // Proc. Intern. symp. on preservation of the environment of the Japan Sea. Kanazawa, Japan, 12 december 1997. – 1997. – P. 17–35.
15. Dimitrieva, G. Yu. The role of microorganisms in control and reservation of the marine coastal environment / G. Yu. Dimitrieva // Proc. Intern. Symp. Earth-Water-Humans. Kanazawa, Japan, 1999. – 1999. – P. 22–35.



**Полтева, А. В.** Индикаторные группы гетеротрофных микроорганизмов прибрежных вод залива Анива (пос. Пригородное) / А. В. Полтева // Биология, состояние запасов и условия обитания гидробионтов в Сахалино-Курильском регионе и сопредельных акваториях : Труды Сахалинского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии. – Южно-Сахалинск : СахНИРО, 2005. – Т. 7. – С. 385–392.

Представлены результаты исследований индикаторной микрофлоры прибрежных вод зал. Анива в августе, октябре, декабре 2003 г. Приведены данные по сезонной динамике численности и распределению двух индикаторных групп микроорганизмов: сапрофитных и фенолоксиляющих. Резких колебаний численности изученных групп микроорганизмов в исследованный период не выявлено.

Табл. – 1, ил. – 2, библиогр. – 15.

**Polteva, A. V.** Indicator groups of heterotrophic microorganisms in the coastal waters of Aniva Bay (settlement Prigorodnoye) / A. V. Polteva // Water life biology, resources status and condition of inhabitation in Sakhalin-Kuril region and adjoining water areas : Transactions of the Sakhalin Research Institute of Fisheries and Oceanography. – Yuzhno-Sakhalinsk : SakhNIRO, 2005. – Vol. 7. – P. 385–392.

The results of studies of indicator microflora in the Aniva Bay coastal waters in August, October, and December 2003 are presented. The data on seasonal abundance dynamics and distribution of two indicator groups of microorganisms (saprophyte and phenol-oxidizing) are given. No abrupt fluctuations in abundance of the microorganism groups examined have been revealed in the study period.

Tabl. – 1, fig. – 2, ref. – 15.