

УДК [551.46.09:504.42.054:65.6]574.5

## АЭРОБНО-АНАЭРОБНЫЕ ПРОЦЕССЫ САМООЧИЩЕНИЯ КОНТАКТНЫХ ЗОН «СУША-МОРЕ» В АКВАТОРИИ СЕВАСТОПОЛЬСКИХ БУХТ

*Рубцова С.И., Бурдиян Н.В., Беляева О.И.*

В настоящее время имеются данные о численности и биохимических особенностях гетеротрофной микрофлоры в прибрежных наносах региона Севастополя [1, 2]. Изучена численность некоторых групп анаэробной микрофлоры в донных осадках акватории Севастополя [3, 4]. Работы по изучению анаэробной микрофлоры в прибрежных наносах Севастопольских бухт не проводились, хотя очевидно, что благодаря активности гидродинамических процессов, трансформация загрязнений в зоне прибоя будет протекать иначе, чем на глубине, где эти процессы ослаблены. Знание процессов преобразования органических веществ в аэробных и анаэробных условиях, в том числе нефти и нефтепродуктов, позволило бы более точно прогнозировать самоочищение морских акваторий от нефтяного загрязнения, включая прибрежные зоны до глубин 1,5 – 2 м.

Целью работы было изучение численности и закономерностей распределения гетеротрофных, углеводородокисляющих, тионовых, сульфатредуцирующих, денитрифицирующих групп бактерий в прибрежных наносах региона Севастополя и их роли в процессах самоочищения Севастопольских бухт.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор проб прибрежных наносов производили на шести станциях: в районе Приморского бульвара (бывший детский пляж), Северной стороне Севастопольской бухты (причал для катеров), бухте Круглая – на выходе из бухты и вершине последней, в районе Учкеевки (открытое море), бухте Казачьей (рис. 1). Места отбора проб отличались по физико-химическим показателям грунтов и степени антропогенного воздействия [2]. Пробы отбирали ежемесячно с 2003 по 2005 годы. Элементы прибрежных наносов для микробиологических анализов стерильно помещали в склянки с притертыми пробками. Количество изучаемых анаэробных микроорганизмов в пробе определяли методом предельных разведений [5]. Численность сульфатредукторов и денитрификаторов определяли на среде Постгейта и Гильтая [6], с учетом солености морской воды и добавлением в качестве восстановителя 3 %-ного раствора сернистого натрия. Тионовые бактерии определяли на среде Сорокина [7], нефтеокисляющих (НМО) и гетеротрофные (ГМО) бактерии по [1, 5]. Полученные результаты обработаны статистически [5].

Исследования в районе причала в бухте Казачьей проводили в период 2003 – 2005 гг. (рис. 1). Причал расположен перпендикулярно берегу. Он представляет бетонное гидротехническое сооружение длиной около 120 м, шириной - 10 м. У причала постоянно швартуются малотоннажные суда. Отбор проб производили на 16 станциях - 8 морских и 8 береговых. На береговых станциях отбирали пробы атмосферных осадков, грунтов и ливневых стоков, на морских станциях – пробы морской воды и донных осадков.

Отбор образцов дождевой воды (до попадания ее на землю) производили в стеклянные накопители осадков - кристаллизаторы. Ливневую воду собирали в стеклянные склянки в «точках» впадения стока в акваторию.

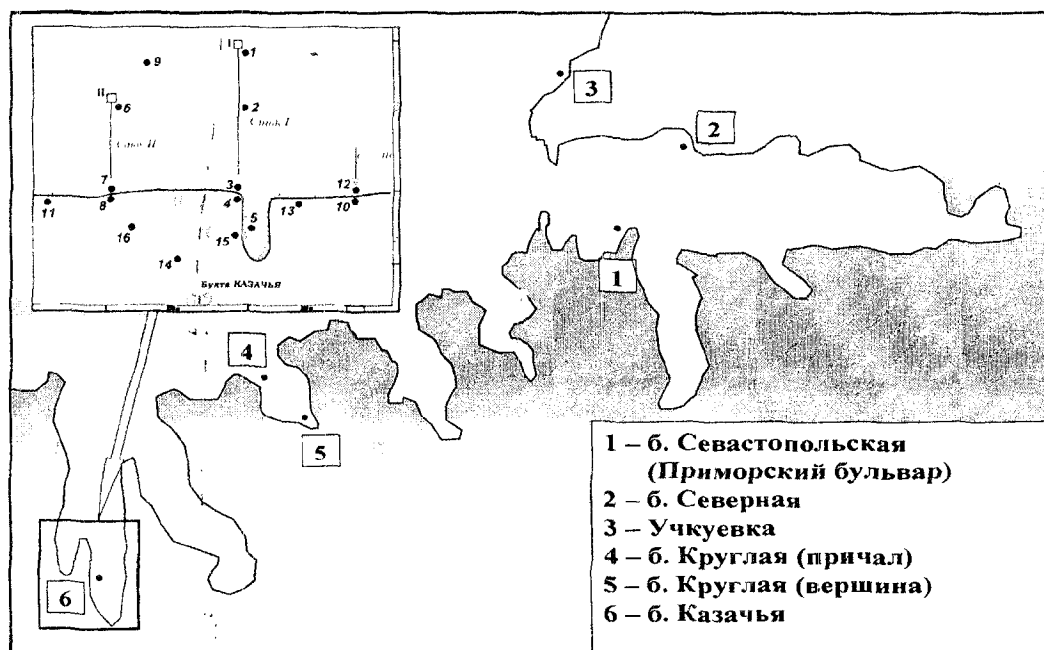


Рис. 1. Схема станций отбора проб в прибрежных наносах Севастопольских бухт

Там же отбирали пробы грунтов в стеклянные бюксы с помощью шпателя. Морскую воду отбирали в склянку. Отбор донных осадков производил водолаз с помощью ручного пробоотборника – стальной трубки. Водолаз проводил визуальный осмотр донной поверхности.

Хлороформэкстрагируемые вещества (ХЭВ) определяли весовым методом, нефтяные углеводороды (НУ) - методом инфракрасной спектроскопии на анализаторе SPECORD 75 IR [8].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основная часть прибрежных наносов представляла собой мелкую гальку и ракушняки с примесью ила; незначительную долю занимали пески или ракушняки с примесью песка и гравия.

Количество хлороформэкстрагируемых веществ и нефтяных углеводородов максимально на станциях в бухте Северная и вершине бухты Круглая (табл.1). Следует отметить высокую численность и родовое разнообразие гетеротрофных и нефтеокисляющих микроорганизмов на этих станциях.

Тионовые бактерии были выделены из всех отбираемых проб. Динамика численности этой группы бактерий на исследуемых станциях приведена на рис.2.

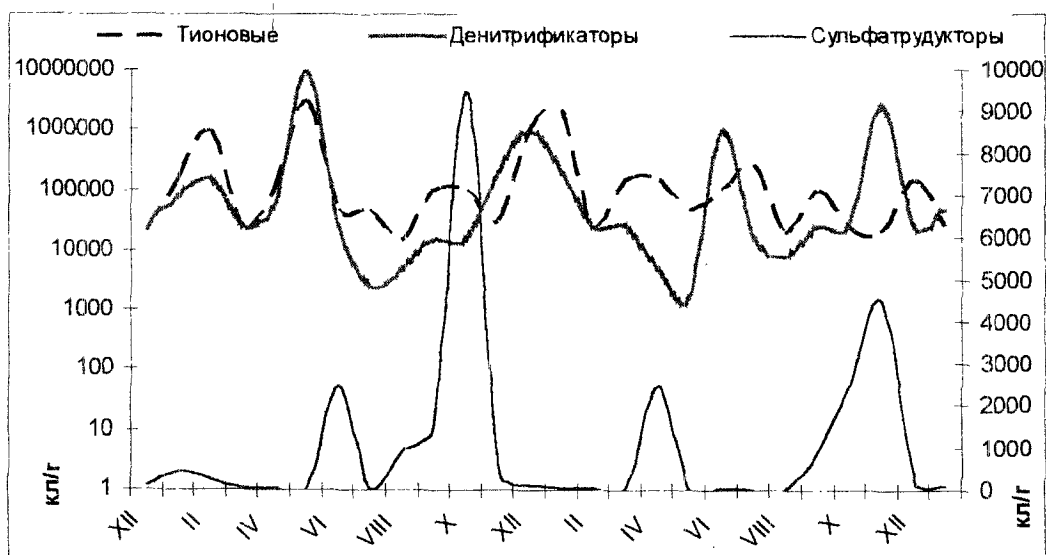


Рис. 2. Динамика численности изучаемых групп бактерий в прибрежных наносах исследуемых станций за 2003-2004 гг.

Численность тионовых бактерий в районе действующего причала (ст.2) на несколько порядков выше, чем на ст.1. Высокое число бактерий на ст.2 отмечено в мае 2003, 2004 гг., в сентябре 2003 и октябре 2004. Очевидно, что количество тионовых бактерий на этих станциях зависело не только от механического состава прибрежного наноса, но и от способности данной группы бактерий утилизировать труднодоступные органические соединения. Это подтверждает четко выраженная корреляционная зависимость между количеством хлороформэкстрагируемых веществ и численностью тионовых бактерий ( $r=0,58$ ).

Ст. 5 и ст. 4 – расположены в бухте Круглая в районе вершины и выхода из бухты. Подробное описание прибрежных наносов этих станций представлено в [1]. Высокая численность тиобактерий на ст.5 определена в мае, октябре 2003 г. ( $95 \cdot 10^5$ ,  $15 \cdot 10^4$  кл/г). В марте, сентябре 2004 г. их количество составляло  $25 \cdot 10^5$  кл/г. На ст.

2 – район открытого моря численность тионовых бактерий варьировала от 1 кл/г (декабрь 2002 г.) до максимальной  $95 \cdot 10^4$  кл/г в декабре 2003 г.

Таблица 1.

Характеристика прибрежных наносов на станциях отбора проб

Параметр	Ст.1	Ст.2	Ст.3	Ст.4	Ст.5	Ст.6
Характеристика прибрежных наносов	мелкая галька с включениями песка, ракушки и ила	мелкая галька с включениями песка и ила	пески	мелкий галечник с крупным песком и обломками ракушки	пески с примесью тонкозернистых темных илов и остатками морской растительности	Крупнозернистые разнородности галька, крупный песок
pH	7,54	7,05-7,12	8,12	8,04	7,82	Не определяли
Eh, мВ	-124	-124	+176	+266	-35	Не определяли
Натуральная влажность, %	65,40	65,40	23,29	31,84	43,30	Не определяли
ХОВ, г/100г	0,08-0,015	0,107-0,125	0,002	0,01-0,03	0,032-0,275	0,4
НУ, мг/100г	следы	23,6-28,3	следы	следы	6,5-59,9	0,08
ГМО, кл/г	$9 \cdot 10^5$	$11 \cdot 10^6$	$45 \cdot 10^6$	$8 \cdot 10^6$	$21 \cdot 10^7$	$7 \cdot 10^5$
НМО, кл/г	$12 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^7$	$12 \cdot 10^2$	$31 \cdot 10^4$	$18 \cdot 10^2$
Родовая характеристика НМО	<i>Pseudomonas, Marinomonas, Mezophilobacter, Altheromonas, Microbacterium</i>	<i>Pseudomonas, Marinococcus, Azotobacter, Mezophilobacter, Bacillus, Arthrobacter</i>	<i>Pseudomonas, Altheromonas, Marinococcus</i>	<i>Pseudomonas, Mezophilobacter, Marinomonas</i>	<i>Pseudomonas, Mezophilobacter, Marinomonas, Marinococcus, Altheromonas, Microbacterium, Bacillus, Micrococcus, Vibrio</i>	Не определяли
Тионовые, кл/г	$68 \cdot 10^3$	$38 \cdot 10^6$	$58 \cdot 10^3$	$65 \cdot 10^4$	$35 \cdot 10^4$	$25 \cdot 10^2$
Денитрификаторы, кл/г	7	22	4	20	6150	750
Сульфатредукторы, кл/г	$13 \cdot 10^4$	$24 \cdot 10^3$	$14 \cdot 10^3$	$12 \cdot 10^4$	$6 \cdot 10^5$	95

На всех исследуемых станциях не была отмечена сезонная зависимость. Максимумы численности наблюдались в разные времена года. По-видимому, на количество этой группы бактерий в первую очередь влияет наличие органических соединений и процессов, приводящих к созданию анаэробных условий.

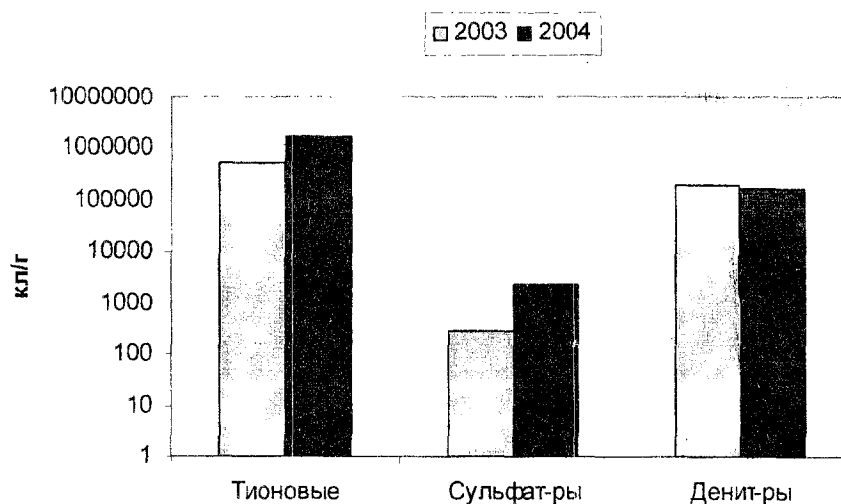
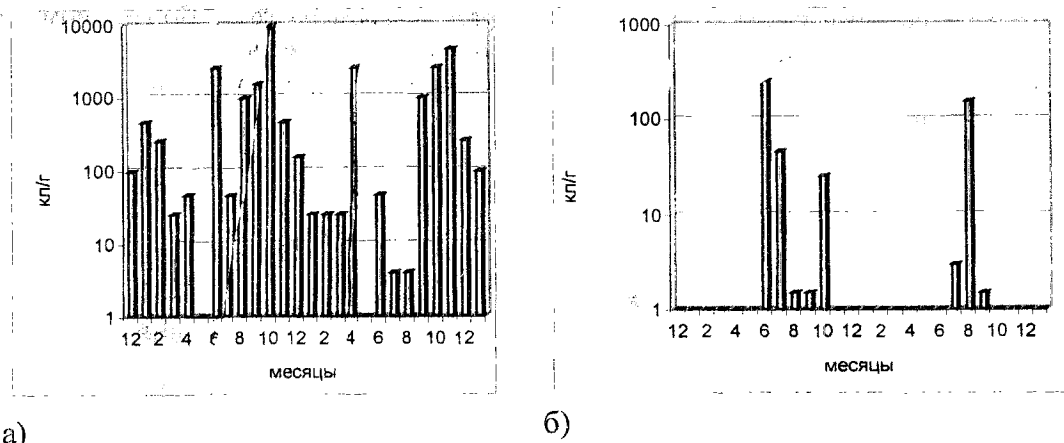


Рис. 3. Осредненные данные численности тионовых, сульфатредуцирующих и денитрифицирующих бактерий в прибрежных наносах Севастопольских бухт.

Сульфатредукторы были высеяны в 60 % всех проб в незначительных количествах. Исключение составляет ст.5, где данная группа выделена в 99 % проб (рис.4). На высокую численность данной группы бактерий на этой станции, по-видимому, оказывает влияние гранулометрический состав прибрежных наносов бухты Круглая. Влияние гранулометрического состава на численность бактерий было отмечено в [9].

Известно, что сульфатредукторы в процессе жизнедеятельности могут использовать только продукты метаболизма углеводородокисляющих бактерий, а не углеводороды нефти [4]. На ст. 5 была отмечена высокая численность нефтеокисляющих бактерий по сравнению с другими станциями (табл. 1). Сезонная динамика сульфатредуцирующих бактерий не отмечена. Максимум численности сульфатредукторов на ст. 4 были в октябре 2003, ноябре 2004 гг. и составляли 9500, 4500 кл/г, соответственно. В районе причала (ст. 4) максимальная численность выделена в июне 2003 г. (250 кл/г), августе 2004 г. (150 кл/г). На всех исследуемых станциях разница в численности сульфатредукторов составляла несколько порядков: от 0,4 кл/г до 150 кл/г. Следует отметить увеличение численности тионовых и сульфатредуцирующих бактерий в 2004 году по сравнению с 2003 годом (рис.3).



а)

б)

Рис. 4. Динамика численности сульфатредуцирующих бактерий на исследуемых станциях за 2003-2004 гг.: а) ст. 5, б) ст. 3.

Нефтеcодержащие стоки, попадая в морскую воду, смешиваются с ней. Концентрация загрязняющих веществ в морской воде составляла 0,6 мг/л ХЭВ и 0,1 мг/л НУ. Уровень ХЭВ и НУ в донных осадках соответственно составлял 0,4 г/ 100 г сухого осадка и 0,08 г/ 100 г сухого осадка.

Так как критерием оценки загрязнения морской среды могут служить предельно-допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ, то соотношение средних показателей ПДК НУ для дождевой воды, ливневого стока, стока плавсредств и морской воды в районе тричала соответственно составляло 1,5 : 5,6 : 10 : 1,2.

По мере удаления от причала на 50 – 70 м содержание НУ в морской воде не превышало предельно-допустимую концентрацию. В донных отложениях отмечались следовые значения НУ. Граница нефтяного загрязнения заканчивалась на расстоянии 30 м от причальной стенки. Учитывая факт, что причал был построен 30 лет назад, можно рассчитать, что граница распространения нефтяного загрязнения увеличивалась примерно на 1 м в год.

Общая численность гетеротрофных бактерий в районе исследования в среднем составляла  $2,0 \times 10^6$  кл/мл, биомасса – 0,41 мг/м<sup>3</sup>. Микроорганизмы были представлены в основном палочковыми и кокковыми формами, отмечено преобладание первых над вторыми в 5-6 раз. Максимальные значения численности бактерий и биомассы были отмечены в августе 2004 г. на станции 15, расположенной у причала, и они соответственно составили  $5,8 \times 10^6$  кл/мл и 5500 мг/м<sup>3</sup>. Известно также, что максимальные значения численности бактерий в Севастопольской бухте приходились на летний период, что связано с повышением содержания органического вещества в морской воде [1].

Численность гетеротрофных и нефтеокисляющих бактерий в морской воде на станциях в бухте Казачья составляла в среднем  $10^2$  кл/мл и 5 кл/мл, в донных осадках –  $9,0 \times 10^5$  кл/г сырого грунта и  $9,5 \times 10^2$  кл/г сырого грунта. Такая концентрация микроорганизмов характерна для относительно чистых акваторий.

Нами было начато исследование аэробно-анаэробных процессов в прибрежных наносах контактной зоны «суша-море». На станциях 2, 3, 4 в 2005 году велись наблюдения за численностью углеводородокисляющих, тионовых, сульфатредуцирующих, денитрифицирующих групп бактерий (рис. 5).

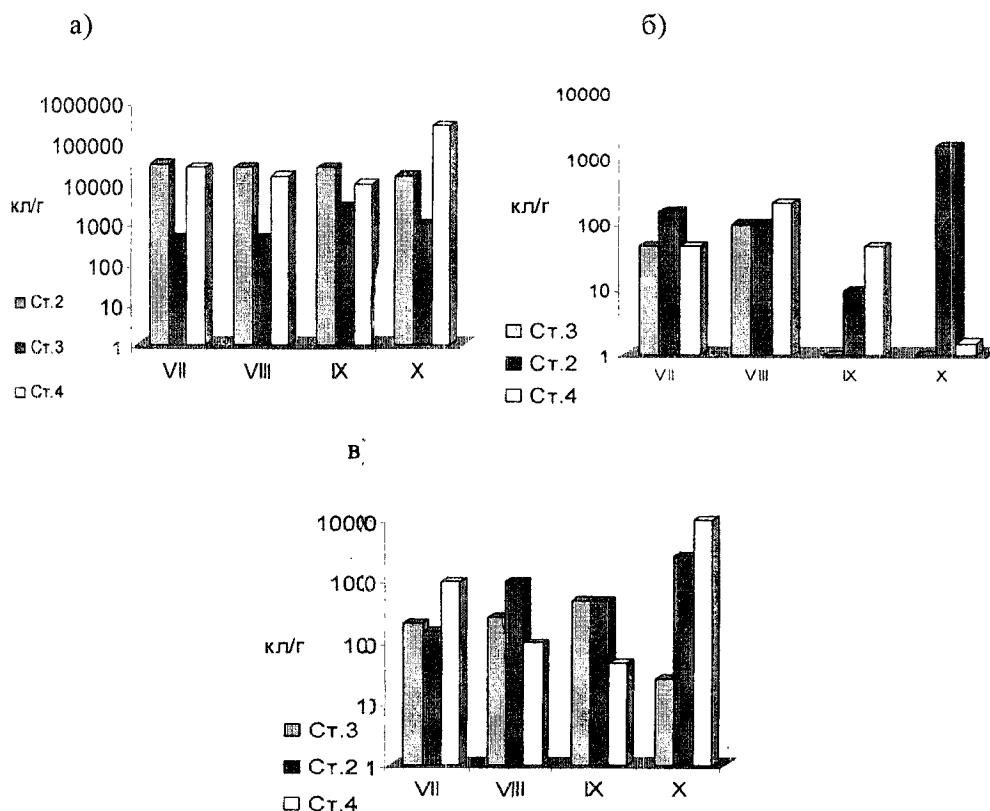


Рис. 5. Численность тионовых (а), сульфатредуцирующих (б), нефтеокисляющих (в) групп бактерий на ст. 2, 3, 4 в 2005 году.

После дождя потоки загрязняющих веществ смываются с суши и попадают в морскую воду. Отмечено увеличение численности нефтеокисляющих бактерий на ст. 3 (Учкуевка) на несколько порядков после обильных осадков. Следует отметить, что содержание нефтяных углеводородов на ст. Учкуевка представлено в следовых количествах. Высокий коэффициент корреляции ( $r = 0,93$ ) между количеством тионовых и нефтеокисляющих групп бактерий позволяет предположить, что самоочищение морской среды от труднорастворимых веществ необходимо рассматривать в комплексе протекающих аэробных и анаэробных процессов утилизации органических соединений.

Качество морских вод прибрежной зоны г. Севастополя формируется под влиянием не только морского транспорта, но и береговых источников загрязнения, к числу которых относятся ливневые стоки [10, 11, 12]. Загрязнение ливневых

стоков напрямую связано с загрязнением земель и атмосферных осадков, что было показано в [11]. Основными источниками нефтяного загрязнения в районе причала бухты Казачья, которая в меньшей степени загрязнена нефтепродуктами [13, 14], являются атмосферные осадки, ливневый сток и сточные воды морского транспорта. Так, концентрация хлороформэкстрагируемых веществ и нефтяных углеводородов в атмосферных осадках соответственно в среднем составляла 0,6 мг/л и 0,14 мг/л. В ливневом стоке концентрация загрязняющих веществ возрастала в 2 – 4 раза по сравнению с атмосферными осадками (2,5 мг/л ХЭВ и 0,26 мг/л НУ). Исключительно высоким было содержание ХЭВ и НУ в сточных водах морского транспорта - 13,8 мг/л ХЭВ и 10,2 мг/л НУ.

Нефтедерживающие стоки, попадая в морскую воду, смешиваются с ней. Концентрация загрязняющих веществ в морской воде составляла 0,6 мг/л ХЭВ и 0,1 мг/л НУ. Уровень ХЭВ и НУ в донных осадках соответственно составлял 0,4 г/100 г сухого осадка и 0,08 г/100 г сухого осадка.

Так как критерием оценки загрязнения морской среды могут служить предельно-допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ, то соотношение средних показателей ПДК НУ для дождевой воды, ливневого стока, стока плавсредств и морской воды в районе причала соответственно составляло 1,5 : 5,6 : 10 : 1,2.

По мере удаления от причала на 50 - 70 м содержание НУ в морской воде не превышало предельно-допустимую концентрацию. В донных отложениях отмечались следовые значения НУ. Граница нефтяного загрязнения заканчивалась на расстоянии 30 м от причальной стенки. Учитывая факт, что причал был построен 30 лет назад, можно рассчитать, что граница распространения нефтяного загрязнения увеличивалась примерно на 1 м в год.

Общая численность гетеротрофных бактерий в районе исследования в среднем составляла  $2,0 \times 10^6$  кл/мл, биомасса – 0,41 мг/м<sup>3</sup>. Микроорганизмы были представлены в основном палочковыми и кокковыми формами, отмечено преобладание первых над вторыми в 5 – 6 раз. Максимальные значения численности бактерий и биомассы были отмечены в августе 2004 г. на станции 15, расположенной у причала, и они соответственно составили  $5,8 \times 10^6$  кл/мл и 5500 мг/м<sup>3</sup>. Известно также, что максимальные значения численности бактерий в Севастопольской бухте приходились на летний период, что связано с повышением содержания органического вещества в морской воде [15].

Численность гетеротрофных и нефтеокисляющих бактерий в морской воде на станциях в бухте Казачья составляла в среднем  $10^2$  кл/мл и 5 кл/мл, в донных осадках -  $9,0 \times 10^5$  кл/г сырого грунта и  $9,5 \times 10^2$  кл/г сырого грунта. Такая концентрация микроорганизмов характерна для относительно чистых акваторий.

## **ВЫВОДЫ**

1. Результаты анализа морской воды и донных осадков подтвердили сведения о низком уровне загрязнения бухты Казачьей и Учкеевки растворенными органическими веществами и нефтяными углеводородами. Максимальные значения загрязняющих веществ отмечены в б. Северная и Круглая.



2. Получены сведения о численности гетеротрофных, углеводородокисляющих, тионовых, сульфатредуцирующих, денитрифицирующих, групп микроорганизмов в прибрежных наносах региона Севастополя.

3. Тионовые бактерии выделены повсеместно, сульфатредуцирующие в 60% проб. Разница в показателях численности бактерий во всех изучаемых группах достигает несколько порядков: в группе тионовых микроорганизмов от 0,9 кл/г до  $2 \cdot 10^6$  кл/г, сульфатредукторов от 0,4 до 9500 кл/г.

4. Сезонной динамики численности тионовых и сульфатредуцирующих бактерий выявлено не было. 5.

5. Отмечено увеличение численности нефтеокисляющих и тионовых бактерий после обильных осадков и ливневых стоков. Высокая корреляционная связь между данными группами бактерий ( $r = 0,93$ ), по-видимому, свидетельствует о том, что тионовые бактерии, наряду с углеводородокисляющими принимают участие в процессе самоочищения от труднорастворимых органических веществ.

#### Список литературы

1. Миронов О. Г. Микробиологическая характеристика прибрежных наносов региона Севастополя (Черное море) // Морской экологический журнал. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 67-74.
2. Рубцова С. И. Автореф. дис. канд. биол. наук. 03.00.17. – Севастополь, 2003. – 19 с.
3. Бурдян Н.В. Анаэробная микрофлора донных осадков Севастопольских бухт (Черное море) // Экология моря. – 2004. – Вып. 66. – С. 22-24.
4. Кузнецова В. А., Горленко В. М. Влияние температуры на развитие микроорганизмов из заводняемых пластов Ромашкинского нефтяного месторождения // Микробиология. – 1965. – Т. 34, вып. 2. – С.329-334.
5. Родина А.Г. Методы водной микробиологии. – М.: Наука, 1965. – 361 с.
6. Романенко В.И., Кузнецов С.И. Экология микроорганизмов пресных водоемов. – Л.: Наука, 1974. – 194 с.
7. Сорокин Ю.И. Микрофлора грунтов Черного моря // Микробиология. – 1962. – 31. Вып. 5. – С. 899-903.
8. Руководство по химическому анализу морских вод. – Л.: Гидрометеиздат, 1993. – 264 с.
9. Теплинская Н. Г., Нидзвецкая Л. М. Влияние гранулометрического состава песка на микрофлору песчаных пляжей // Биологические науки. – 1984. – Т. 1. – С. 82 - 85.
10. Беляева О. И. Особенности сезонной и годовой динамики бактериопланктона в Севастопольской бухте (1980 – 1984 гг.) // Труды Государственного океанографического института. – Л.: Гидрометеиздат, 1987. – № 180. – С. 112-119.
11. Беляева О.И. Проблема нефтяного загрязнения ливневых стоков в морской береговой зоне Севастопольской бухты (обзор) // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия география. – Симферополь, 2004. – Т. 17(56), вып. 4. – С. 105-112.
12. Миронов О.Г. Состав органической компоненты ливневых стоков в районе г. Севастополя // Оценка расположенных на суше источников загрязнения морей, омываемых государства СНГ. - Севастополь, 1992. – Т. 1. – С. 48-49.
13. Миронов О.Г., Кирюхина Л.Н., Алемов С.В. Экологическая характеристика бухты Казачья (Черное море) // Экология моря. – Севастополь, 2002. – Вып. 61. – С. 85-89.
14. Миронов О.Г., Кирюхина Л.Н., Алемов С.В. Санитарно-биологические аспекты экологии севастопольских бухт в XX веке. – Севастополь, 2003. – 185 с.
15. Беляева О.И. Влияние ливневого стока на нефтяное загрязнение в бухте Казачья (Черное море) // Экология моря, 2004. - № 66. – С. 17-21.

*Поступила в редакцию 01.03.2006 г.*