

Л.А.Попова

Институт биологии южных морей НАН Украины, г.Севастополь

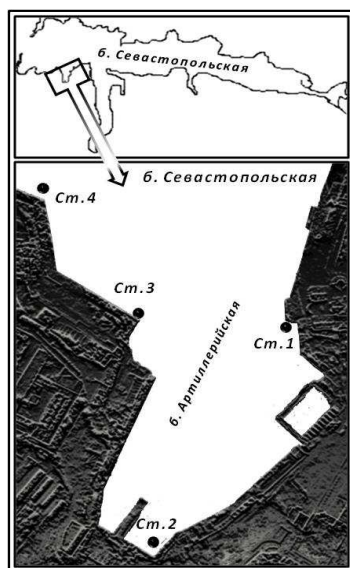
**ЦИЛИОПЕРИФИТОН ИСКУССТВЕННЫХ СУБСТРАТОВ
(ГИДРОТЕХНИЧЕСКИХ СООРУЖЕНИЙ) И ЕГО УЧАСТИЕ
В ПЕРЕДАЧЕ НЕФТЯНЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ ПО ПИЩЕВОЙ ЦЕПИ**

На основании собственных исследований и анализа литературных данных автором обсуждается участие инфузорий перифитона в передаче нефтяных углеводородов по пищевой цепи. Приведены расчёты по количественному участию цилиоперифитона в передаче нефтяных углеводородов в Севастопольской бухте (Севастополь, юго-западное побережье Крымского п-ова, Чёрное море). Полученные данные свидетельствуют об участии цилиоперифитона в передаче нефтяных углеводородов, что даёт основание рекомендовать при экологическом мониторинге и расчёте самоочищающей способности акваторий учитывать вклад перифитонных инфузорий. Результаты данных исследований можно использовать для прогнозирования развития цилиоперифитона в других акваториях со сходным уровнем нефтяного загрязнения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *цилиоперифитон, искусственные субстраты, нефтяное загрязнение, Чёрное море.*

Сообщество перифитонных инфузорий (цилиоперифитон) представляет перспективный объект для исследований, поскольку, как одноклеточные организмы, инфузории обладают высокой скоростью размножения, экологической пластичностью и способны в короткий срок реагировать даже на незначительные изменения окружающей среды заметными перестройками в структурной организации сообщества [1, 2]. Как известно, способность морской среды к самоочищению от нефти определяется активностью нефтеокисляющей микрофлоры, которая является единственным компонентом водных экосистем, способным разрушить нефтяные углеводороды (НУ) и ввести их в естественный круговорот органических веществ. Состояние морской микрофлоры (нефтеокисляющих бактерий, дрожжей и грибов), в свою очередь, определяется влиянием следующего звена трофической цепи, представленного, в основном, инфузориями. Роль последних в процессах самоочищения морской среды от НУ недостаточно изучена, поэтому её исследование актуально для представления об изменениях потоков вещества и энергии в прибрежных акваториях, к которым относится и акватория Севастополя.

Взаимодействие черноморских инфузорий (в том числе вида *Euplotes vannus*) с нефтяным загрязнением рассматривали в 70 – 80-е гг. XX в. [3 – 6]. Роли цилиоперифитона в процессах колонизации субстрата были посвящены исследования [7 – 9]. Особенности питания и изменения рациона черноморских инфузорий посвящены работы Павловской Т.В. [10], где выведен ряд количественных закономерностей в потреблении пищи (одноклеточных водорослей и бактерий) инфузориями, в том числе, и *Euplotes vannus*. Однако в последнее десятилетие исследования свободноживущих подвижных инфузорий перифитона на искусственных субстратах (гидротехнических сооружениях, элементах систем гидробиологической очистки,



Р и с . 1 . Схема расположения станций в б.Артиллерийская.

стеклянных пластинах) в прибрежной контактной зоне «суша-море» не проводились. Не рассматривалось и возможное участие цилиоперифитона региона Севастополя в передаче нефтяных углеводородов по пищевой цепи.

В связи с этим изучали качественно-количественные характеристики и трофическую структуру цилиоперифитона, а также участие этой группы организмов в передаче НУ по пищевой цепи на более высокие трофические уровни. Подобные исследования необходимы как для общей характеристики экологического состояния прибрежной акватории, так и для количественной оценки вклада цилиоперифитона в процесс самоочищения морской среды от НУ.

На рис.1 представлена схема расположения полигонов исследований.

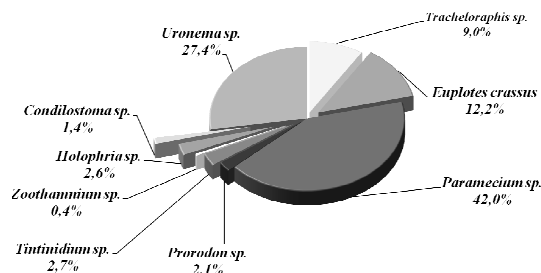
В настоящей работе для изучения участия свободноживущих подвижных инфузорий перифитона в передаче нефтяных углеводородов по пищевой цепи были поставлены следующие задачи:

- определить численность массовых видов свободноживущих подвижных инфузорий и трофическую структуру цилиоперифитона искусственных субстратов прибрежной зоны акватории Севастополя;
- исследовать сезонные изменения видового разнообразия, численности и трофической структуры цилиоперифитона гидротехнических сооружений Артиллерийской бухты, регион Севастополя;
- количественно оценить поток нефтяных углеводородов через инфузории перифитона гидротехнических сооружений на примере Артиллерийской бухты, регион Севастополя.

Материал и методы. Материалом для исследований служили пробы перифитона, собранные в период 2006 – 2011 гг. с вертикальной поверхности гидротехнических сооружений (б.Севастопольская). С вертикальных поверхностей отбор перифитона проводили с помощью ручной драги. Материал доставляли в полиэтиленовой ёмкости в небольшом количестве морской воды в лабораторию, где фильтровали на мельничный газ № 100, осадок микроскопировали, подсчитывая численность и проводя идентификацию инфузорий. Полученные данные пересчитывали на 1 м².

Идентификацию проводили по [11]. Концентрации НУ в морской воде определяли по [12]. Статистическую обработку материала проводили с использованием однофакторного дисперсного анализа (проверку достоверности различия двух выборок проводили по критерию Стьюдента при $p = 0,05$) и корреляционный анализ.

Результаты и обсуждение. Бухта Севастопольская (набережная б.Артиллерийской). За период с апреля 2006 г. по сентябрь 2007 г. из перифитона набережной б.Артиллерийской было выделено 9 родов инфузорий, *Euplotes crassus* определён до вида. Максимальное таксономическое



Р и с . 2 . Таксономическая структура цилиоперифитона Севастопольской бухты (набережная) в период 2006 – 2007 гг.

максимальная (3325 экз.·м⁻²) отмечена в августе 2006 г., наименьшая (75 экз.·м⁻²) – в феврале 2007 г.

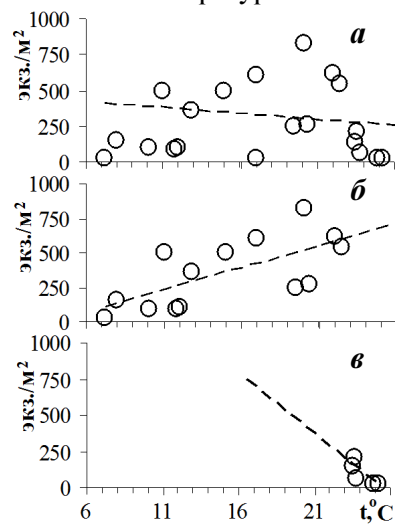
Анализ динамики численности в температурном диапазоне от 7,2 до 24,2 °С показывает отсутствие влияния температуры на плотность поселения инфузорий (рис.3, а), однако видно, что есть критическая точка, которая разбивает совокупность на две части: при температуре до 22,5 °С (рис.3, б) прослеживается устойчивый рост численности инфузорий (коэффициент корреляции $r = 0,67$), при дальнейшем повышении температуры численность снижается (рис.3, в).

В морской воде б.Артиллерийской концентрации НУ в 2006 г. редко превышали ПДК (0,05 мг·л⁻¹), а в 2007 г. часто были выше (до 0,27 мг·л⁻¹ в марте). Численность цилиат (рис.4) имеет слабовыраженную тенденцию к снижению при увеличении концентрации НУ ($r = -0,27$). Видовое разнообразие также имеет слабовыраженную тенденцию к уменьшению ($r = -0,18$) при увеличении концентрации НУ.

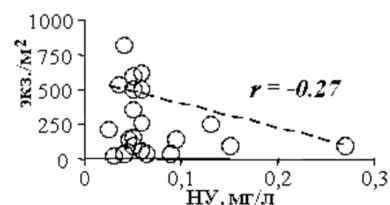
В Артиллерийской бухте на 4-х станциях с осени 2007 до лета 2011 гг. исследовали трофическую структуру цилиоперифитона. Рассмотрено посезонное изменение трофической структуры всех четырёх станций за весь период наблюдений. Самые высокие показатели относительной численности микрофагов характерны для осеннего периода, летом, напротив, кроме как на ст.4 эти показатели снижались до минимума. Доля миксотрофов летом, как обычно, выше, чем в другие сезоны. Альгофаги максимально представлены в цилиоперифитоне внутренних станций в весенне-летний период (рис.5).

На станциях, расположенных в более открытых участках доля альгофагов увели-

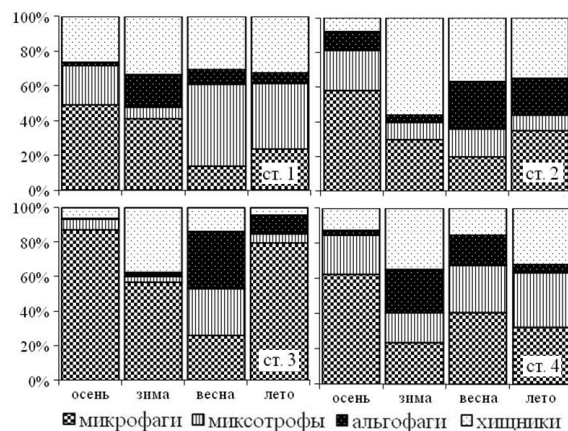
разнообразие инфузорий (9 родов) было обнаружено в мае 2007 г., минимальные показатели (по 2 рода) в конце 2006 г. – начале 2007 г. и в середине июля 2007 г. Максимальное видовое разнообразие инфузорий приурочено к температурам морской воды выше 20 °С. На рис.2 показана среднегодовая таксономическая структура. Наибольшая общая численность (3325 экз.·м⁻²) отмечена



Р и с . 3 . Численность цилиоперифитона в зависимости от t морской воды (°С).



Р и с . 4 . Численность цилиоперифитона в зависимости от концентрации НУ.



Р и с . 5 . Сравнение сезонных трофических структур ст.1 – 4 в 2007 – 2011 гг.

Такое распределение более выражено на внутренних станциях (ст.2 и 3); на станциях, расположенных ближе к открытому морю доля микрофагов ниже.

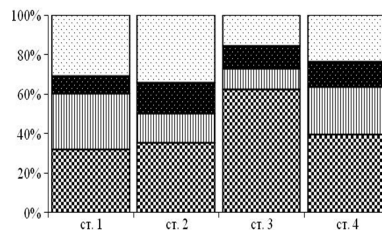
Выделение цилиат-микрофагов в особую группу, которая напрямую участвует в передаче НУ от микроорганизмов через инфузории на более высокие трофические уровни, позволяет определить станции, где цилиоперифитон наиболее активен в процессах самоочищения морской среды. Доля микрофагов в общей численности цилиоперифитона в тёплое время года изменялась от 26,3 до 88,4 %, в холодное время (t морской воды ниже 13 °С) – от 7 до 100 %. Наиболее активным в процессах передачи НУ был цилиоперифитон на ст.3.

Расчёт количественного участия цилиоперифитона в процессе передачи НУ в Севастопольской бухте (Чёрное море). Инфузории являются одним из вероятных звеньев в цепи передачи НУ в перифитоне: нефть → нефтеокисляющие бактерии (нефтеокисляющие дрожжи) → простейшие (инфузории) → многоклеточные организмы. С другой стороны, если инфузории непосредственно заглатывают нефть в виде нефтяных глобул, передача НУ идёт по пути: нефть → нефтяные глобулы → простейшие (инфузории) → многоклеточные организмы.

Изучение этого процесса в естественных условиях, в том числе в перифитоне, представляет определенные трудности. В связи с этим мы провели ряд экспериментов, методические подходы к которым изложены ранее [13]. Большая часть инфузорий, как выяснилось в наших исследованиях, являются либо бактериофагами (микрофагами), либо характеризуются смешанным типом питания. Следовательно, многие из них постоянно или периодически питаются микроорганизмами, в том числе, и нефтеокисляющими (которые могут использовать НУ в качестве единственного источника вещества и энергии). В наших экспериментах использованы культуры нефтеокисляющих бактерий (*Bacterium*

живается зимой. Относительная численность хищных инфузорий увеличивается к зиме и уменьшается весной.

Сравнение трофического состава цилиоперифитона всех четырёх станций за весь период исследований показало (рис.6), что в б.Артиллерийской наиболее распространены микрофаги, на втором месте по численности стоят хищники, на третьем – миксотрофы, меньше всего альгофагов.



Р и с . 6 . Трофическая структура цилиоперифитона на 4-х станциях в б.Артиллерийской (2007 – 2011 гг.).

halophilium) и нефтеокисляющих дрожжей, выделенных из воды б.Севастопольской (Приморский бульвар). Показано, что оптимальным для развития инфузорий является смешанный рацион, состоящий из бактерий в концентрации 10^6 кл·мл⁻¹ и дрожжей $2 \cdot 10^3$ кл·мл⁻¹, что согласуется с работами Т.В.Павловской.

На основании этого оптимального рациона было рассчитано среднее количество НУ (мг·сут.⁻¹), потреблённое перифитонными инфузориями с нефтеокисляющими бактериями для дальнейшей передачи по пищевой цепи для летнего периода (при средней температуре воды 21 °С).

При концентрации бактериальной пищи 10^6 кл·мл⁻¹ одна особь *Euplotes* потребляет в час 2,6 % от веса своего тела, что составляет 1100 бактериальных клеток. По данным [14] нефтеокисляющие бактерии составляли 0,096 % от общей численности (10^6 кл·мл⁻¹) гетеротрофных бактерий в Артиллерийской бухте.

Общая подводная площадь бетонной набережной б.Артиллерийской составляет 7000 м². Каждая нефтеокисляющая бактерия потребляет 5×10^{-12} мг нефти в час [15].

На 1 м² наблюдали в среднем 3,4 инфузории рода *Euplotes*, а на всей поверхности набережной в Артиллерийской бухте в перифитоне ожидаемая численность – 23,8 тыс. *Euplotes*. Таким образом, все *Euplotes* в обрастаниях бухты Артиллерийской, поглощают 25133 нефтеокисляющих бактерий в час, передавая по пищевой цепи далее, с учётом двух генераций за 24 часа, $6 \cdot 10^6$ мг нефти в сутки. При концентрации бактериальной пищи 10^7 кл·мл⁻¹ [16], часовое потребление *Euplotes* составляет 13285 клеток. При этой численности бактерий в морской воде б. Артиллерийской доля нефтеокисляющих – 0,36 %. Следовательно, при данной концентрации пищи все перифитонные *Euplotes* в Артиллерийской бухте поглощают 1138259 нефтеокисляющих бактерий в час, вовлекая в дальнейшую передачу по пищевой цепи $2,7 \cdot 10^4$ мг нефти в сутки.

Доля *Euplotes* в сообществе инфузорий в летний период составляет в среднем 9,1 %. Допустив, что все перифитонные инфузории также могут потреблять нефтеокисляющие бактерии, общий объём нефти, передаваемой по пищевой цепи в б.Артиллерийской, может изменяться от $2,3 \cdot 10^4$ до $1,02 \cdot 10^2$ мг в сутки.

Другой путь, по которому может идти передача НУ с участием инфузорий – заглатывание цилиатами нефтяных глобул, связанных с источниками питания (например, осевшими на капельки нефти первичными бактериальными плёнками). Ранее получены фотографии инфузорий с фагоцитированными капельками сырой нефти [17]. Мы провели подобный эксперимент, в ходе которого получили фотографию инфузории *E. crassus* с поглощёнными из приготовленной эмульсии каплями дизельного топлива. По линейным размерам можно приблизительно рассчитать объём поглощённых нефтепродуктов. Длина инфузории – 87,2 мкм, диаметр капель ДТ, видимых в люминесцентный микроскоп, – от 0,17 до 0,43 мкм. Наблюдали 6 капель ДТ внутри инфузории. В среднем, можно считать, что в данной инфузории находится $8,19 \cdot 10^{-12}$ мл дизельного топлива. По приведённым выше расчётам, численность инфузорий рода *Euplotes* в обрастаниях б.Артиллерийской со-

ставляет 23,8 тыс. экземпляров. Таким образом, можно предположить, что всеми *Euplotes* извлекается из воды $1,95 \cdot 10^7$ мл ДТ, которое передаётся далее по пищевой цепи на более высокие трофические уровни.

На основании вышесказанного можно полагать, что инфузории не только участвуют в передаче НУ в перифитоне, но и передают нефтяные углеводороды по пищевой цепи на более высокие трофические уровни.

Выводы. На основании многолетних полевых и экспериментальных наблюдений можно сделать следующие выводы:

1. Впервые количественно определена величина потока НУ, проходящего через одну особь *Euplotes*. При потреблении нефтеокисляющих бактерий эта величина составляет $2,5 \cdot 10^{-10}$ мг НУ/сутки. При непосредственном заглатывании капель нефтепродуктов 1 инфузория может поглотить $8,19 \cdot 10^{-12}$ мл НУ/сутки. Все *Euplotes* перифитона б.Артиллерийской могут извлечь из морской среды – с нефтеокисляющими бактериями, в зависимости от концентрации последних, – $6 \cdot 10^{-6}$ мг – $2,7 \cdot 10^{-4}$ мг НУ/сутки, путём фагоцитоза – $1,9 \cdot 10^{-7}$ мл НУ/сутки.

2. Отмечено, что наибольшая численность и видовое разнообразие инфузорий перифитона приурочены к летним температурам морской воды в пределах 20 °С, с преобладанием по численности в вершине Артиллерийской бухты *Paramecium* sp.

3. Трофический состав цилиоперифитона внутренних станций б.Артиллерийской представлен доминирующими микрофагами, вторые по численности – хищники, меньше всего альгофагов. На станциях, расположенных мористее доля микрофагов уменьшается за счёт увеличения доли миксотрофов.

4. Полученные данные свидетельствуют об участии цилиоперифитона в процессах самоочищения морской среды, что даёт основание рекомендовать при экологическом мониторинге и расчёте самоочищающей способности акваторий учитывать вклад перифитонных инфузорий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бурковский И.В. Колонизация стерильного морского песка псаммофильными организмами / Экология свободноживущих морских и пресноводных простейших. – Л.: Наука, 1990. – С.37-46.
2. Taylor G.T. The role of pelagic heterotrophic protozoa in nutrient cycling: A review // Ann. Inst. Océanogr. – 1982. – v.58(S). – P.227-241.
3. Биологические аспекты нефтяного загрязнения морской среды / Под общ. ред. О.Г.Миронова. – Киев: Наукова думка, 1988. – 248 с.
4. Миронов О.Г. Бактериальная трансформация нефтяных углеводов в прибрежной зоне моря // Морской экологический журнал. – 2002. – 1, вып.1. – С.56-66.
5. Миронов О.Г., Авдеева С. У. Влияние нефтяного загрязнения на развитие некоторых черноморских инфузорий // Биологич. науки. – 1973. – № 5. – С.19-21.
6. Миронов О.Г., Авдеева С. У. Развитие сообщества простейших на нефти в морской воде // Биологич. науки. – 1978. – № 10. – С.48-50.
7. Горбенко Ю.А Экология морских микроорганизмов перифитона. – Киев: Наукова думка, 1977. – 249 с.
8. Далёкая Л.Б. Прикрепленные инфузории сообщества обрастания на стадии доминирования гидроида *Obelia loveni* // Наук. зап. ТНПУ им. В. Гнатюка. Сер. Биология. – 2005. – № 4 (27). – С.63.

9. *Жариков В.В.* Участие простейших в обрастании стёкол в Чёрном море // Вест. Лен. ун-та.– 1980.– № 15, вып. 3.– С.21-32.
10. *Павловская Т.В.* Питание и размножение массовых видов инфузорий Чёрного моря: Автореф. дисс. канд. биол. наук.– Севастополь: ИнБЮМ, 1971.– 20 с.
11. *Kahl A.* Ciliata libera et ectocommensalia // Leipzig. (Tierwelt der Nord- und Ostsee: Lief. 23). – 1933.– II, с.3.– S.146.
12. *Орадовский С.Г.* Комплекс химико-аналитических методов исследования нефтяного загрязнения морских вод / Методы исследования органического вещества в океане.– М.: Наука, 1980.– С.249-261.
13. *Попова Л.А.* Методы и результаты изучения сообщества инфузорий на твердом субстрате // Экология моря.– 2004.– вып.66.– С.88-90.
14. *Мионов О.Г., Кирюхина Л.Н., Алёмов С.В.* Санитарно-биологические аспекты экологии севастопольских бухт в XX веке.– Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2003.– 185 с.
15. *Мионов О.Г.* Санитарно-биологические исследования в прибрежной акватории региона Севастополя / Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика. - 2009. – 192 с.
16. *Попова Л.А.* Методические подходы к изучению потоков нефтяных углеводородов через инфузории перифитона // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа.– Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2009.– вып.18.– С.70-75.
17. *Andrews A.R., Hoodgate G.D.* Some observations on the interactions of marine protozoa and crude oil residues / Marine Biology.– 1974.– v.25.– P.7-12.

Материал поступил в редакцию 12.10.2012 г.

АНОТАЦІЯ. На підставі власних досліджень і аналізу літературних даних обговорюється участь інфузорій перифітону в передачі нафтових вуглеводнів по харчовому ланцюгу. Аналізується взаємодія ціліоперифітону з різними факторами середовища. Приведені розрахунки по кількісній участі ціліоперифітону в передачі нафтових вуглеводнів в Севастопольській бухті (Севастополь, південно-західне узбережжя Кримського п-ова, Чорне море). Отримані дані свідчать про участь ціліоперифітону в передачі нафтових вуглеводнів, що дає основу рекомендувати при екологічному моніторингу і розрахунку акваторій до самоочищення враховувати вклад інфузорій перифітону. Результати цих досліджень можна використати також для прогнозування розвитку ціліоперифітону в інших акваторіях зі схожим рівнем нафтового забруднення.

ABSTRACT. The periphyton infusoria part in the oil hydrocarbons transfer in the food chain is being discussed on the base of the own data and literature data analysis. The ciliaperiphyton interaction with the different factors of environment is being analyzed. The calculations of the ciliaperiphyton quantitative participation in the oil hydrocarbons transfer in the Sevastopol bay (Sevastopol, south western coast of the Crimean peninsular, the Black Sea) are given. The data obtained confirm the ciliaperiphyton participation in the oil hydrocarbons transfer and therefore we would recommend to take into account the periphyton infusoria contribution under the ecological monitoring and calculating the aquatorium self-purification ability. Results of the given investigations can be used for predicting the ciliaperiphyton development in other aquatoria with the oil pollution similar level.