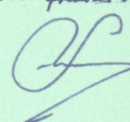


РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
КОЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
МУРМАНСКИЙ МОРСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

Библиотека
В.В. Сапожников


На правах рукописи
УДК 591.524.12(268.45)

ШИРОКОЛОВА
Татьяна Ивановна

**БАКТЕРИОПЛАНКТОННЫЕ СООБЩЕСТВА
ЭСТУАРНЫХ ЗОН И ПРИБРЕЖНЫХ
ЭКОСИСТЕМ БАРЕНЦЕВА МОРЯ**

Специальность 25.00.28 - Океанология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Отпечатано в издательском центре ММБИ КНЦ РАН
Заказ № 10-09. Тираж 100 экз. Тел. 25-39-81

Мурманск
2009

Работа выполнена в Мурманском морском биологическом институте
Кольского научного центра Российской академии наук

Научный руководитель: доктор биологических наук
Мишустина Ирина Евгеньевна

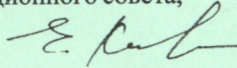
Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Воскобойников Григорий Михайлович
доктор технических наук
Галынкин Валерий Абрамович

Ведущая организация: Московский Государственный университет им. М.В.
Ломоносова (МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва)

Защита диссертации состоится: " 21 " декабря 2009 г. в ___ часов на заседании
диссертационного совета Д 002.140.01 при Мурманском морском
биологическом институте Кольского научного центра Российской академии
наук по адресу: 183010, г. Мурманск, ул. Владимирская, д. 17.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Мурманского морского
биологического института КНЦ РАН по адресу: 183010, г. Мурманск, ул.
Владимирская, д. 17.

Автореферат разослан: " 20 " ноября 2009 года

Ученый секретарь
специализированного диссертационного совета,
кандидат географических наук  Е.Э. Кириллова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. В прибрежье Кольского полуострова многообразии экосистем с уникальными комплексами связей между их отдельными компонентами обусловлено существованием губ и заливов, различающихся морфометрией, степенью изоляции от моря, объемами принимаемых береговых стоков. Акватория одного из наиболее крупных заливов - Кольского по морфометрическим характеристикам подразделяется на три участка (колена): южное, среднее и северное. В соответствии с экологическим районированием они соответствуют трем экологически разнородным областям: эстуарной - южной, экотонной - средней и морской - северной (Матишов и др., 2000). Зона активного смешения речных и морских вод южного колена залива, с частой сменой солености, может служить хорошим полигоном для микробиологических исследований. Принимая во внимание малую изученность бактериопланктона подобных зон в морях Русского сектора Арктики (Байтаз, Байтаз, 1993; Бардан, Корнеева, 2004; Мишустина и др., 2006), можно утверждать, что даже материал по одному из таких районов может представлять собой большой научный интерес.

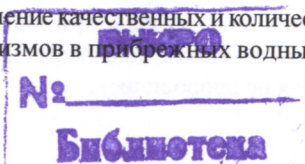
Поскольку морские экосистемы южной части Кольского залива функционируют в условиях стабильного антропогенного пресса (Кольский..., 2009), остро стоит вопрос необходимости разработки эффективных технологий мониторинга их особо уязвимых мелководных зон и зон смешения речных и морских вод в связи с существованием угрозы кумулятивных эффектов различных загрязнителей (Денисов, 1997).

Для микробиологических исследований в Кольском заливе серьезной проблемой является отсутствие опубликованных данных по численности бактериопланктона и многолетней динамике его количественных показателей.

На современном этапе необходимость в получении сведений о структурных характеристиках бактериального населения, как основного участника деструкционных процессов органики естественного и антропогенного происхождения в пелагиали залива, очевидна как для теоретических, так и для прикладных исследований. Отдельные работы, посвященные бактериопланктону и бактериобентосу Кольского залива, включающие санитарно-микробиологический анализ его поверхностных вод (Трунова и др., 1977; 1977а; Пономарева, 1978; Потанин, Пономарева, 1981; Перетрухина, 2001), круглогодичные исследования микроорганизмов литорального мелководья (Богданова, 2003; Макаревич, 2004; Перетрухина, 2006), а также водной толщи в летний и зимний сезоны (Байтаз, Байтаз, 1991; Мишустина и др., 2006; Венгер, 2007), не освещают этот вопрос в полной мере.

Цели и задачи работы:

Основной целью работы являлось изучение качественных и количественных характеристик гетеротрофных микроорганизмов в прибрежных водных массах



разного генезиса (в частности Кольского залива), а также определение степени влияния ведущих факторов среды на их пространственно-временную динамику.

Для достижения цели решались следующие задачи.

1. Изучить состав, распределение, сезонную динамику показателей обилия бактериопланктона и определяющие их экологические факторы.

2. Дать сравнительную оценку структуры и динамики микробиоценозов вод в разной степени трансформированных пресным стоком.

3. Определить состав трофических групп микробных сообществ, изучить их распределение и динамику в водах разного генезиса.

4. Исследовать количественные характеристики и морфологию фильтрующихся клеток бактериопланктона, а также факторы, определяющие их появление в эстуарных и морских прибрежных экосистемах.

Защищаемые положения:

1. Сложная структура водной толщи акватории Кольского залива включает постоянно распресненный поверхностный и слабо трансформированный придонный слои, которые являются качественно разными биотопами для бактериопланктона и характеризуются выраженными различиями в его составе и количественных показателях.

2. В бактериопланктонных сообществах, населяющих область смешения морских и пресных вод, к кустовой части залива происходит уменьшение численности галофильных бактерий, а ее сезонная динамика, определяемая активностью первичных продуцентов, менее выражена в этой части по сравнению с мористыми участками.

3. Одним из факторов массового появления в водах эстуарной и прибрежной зоны фильтрующихся клеток бактериопланктона является наличие в их среде экзометаболитов макро- и микроводорослей.

Практическое значение работы заключается в новых сведениях о динамике, распределении, качественных и количественных характеристиках бактериопланктонных сообществ эстуарной зоны Кольского залива.

Представленные в работе данные могут быть использованы: для прогнозирования реакций микробного компонента прибрежных экосистем на совокупность процессов естественного и антропогенного воздействия; для разработки принципов рационального природопользования в условиях нарастающего экологического пресса северных морских акваторий; при инженерно-экологических изысканиях, предворяющих строительство гидросооружений. Материалы работы могут быть использованы в курсах лекций по морской микробиологии и экологии микроорганизмов, читаемых на профильных кафедрах ВУЗов Российской Федерации.

Научная новизна работы определяется тем, что:

- ранее в пелагиали приливной зоны Баренцева моря с высокими градиентами солености долгопериодные (многолетние) микробиологические исследования не проводились;

- впервые в практике отечественной морской микробиологии при исследовании использовано сочетание культуральных методов и методов эпифлюоресцентной и электронной микроскопии;

- получены оригинальные данные о численности, динамике и распределении культивируемых умеренно галофильных и галоустойчивых бактерий, показана зависимость увеличения их числа от активности первичных продуцентов в водных массах с постоянным фоном аллохтонной органики;

- разработан метод выделения и культивирования фильтрующихся бактерий. Получены новые данные их количественного и качественного состава в водах прибрежной и эстуарной зон.

Апробация работы. Материалы и результаты работы обсуждались на научно-практических всероссийских и международных конференциях: "Биологические основы устойчивого развития прибрежных морских экосистем" (Мурманск, 2001), "Инструменты, методы и задачи астробиологии VI" (Москва, 2002), "Современные проблемы океанологии шельфовых морей России" (Ростов-на-Дону, 2002), "ЭМ - 2004" (Черноголовка, 2004), "Водные экосистемы и организмы" (Москва, 2004г.), "Теория и практика комплексных морских исследований в интересах экономики и безопасности российского Севера" (Мурманск, 2005), "Нефть и газ Арктического шельфа-2006" (Мурманск, 2006), "Биоразнообразие сообществ морских и пресноводных экосистем России" (Мурманск, 2007), "Естественные и инвазийные процессы формирования биоразнообразия водных и наземных экосистем" (Ростов-на-Дону, 2007), "Водные экосистемы: трофические уровни и проблемы поддержания биоразнообразия" (Вологда, 2008).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 15 работ, 2 из которых - в журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации. Работа состоит из введения, четырех глав, выводов и списка литературы. Она изложена на 166 страницах, содержит 24 таблицы, 39 рисунков. Список литературы включает 264 наименований, из них 50 зарубежных авторов.

Благодарности. Хочу выразить свою искреннюю признательность директору института академику Г.Г. Матишову и зам. директора д.б.н. П.Р. Макаревичу за всестороннюю поддержку моих исследований. Выражаю глубокую благодарность руководителю д.б.н. И.Е. Мишустинной за помощь в анализе материала, а также д.б.н. В.В. Ильинскому за ценные критические замечания, высказанные при подготовке диссертации. Отдельно хочу поблагодарить коллег за неоценимую помощь, оказанную в обработке проб и полученные советы при обсуждении результатов работы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

В главе приведена физико-географическая и экологическая характеристика Мурманского побережья Баренцева моря. Дано описание некоторых абиотических факторов, влияющих на бактериальные сообщества пелагиали, и отношение к ним микроорганизмов. Представлена микробиологическая характеристика вод, входящих в состав прибрежных водных масс разного генезиса. Рассмотрены традиционные и нетрадиционные методы исследования бактериопланктона, используемые в морской микробиологии.

Глава 2. Объекты и методы исследования

В главе дано физико-географическое описание Кольского залива. Приведены гидрологические и динамические характеристики вод его южной эстуарной зоны. Дополнительно для изучения факторов, влияющих на распределение и количественные характеристики фильтрующихся форм бактериопланктона, привлечены материалы исследований, проводимые ранее в губах Восточного Мурмана. Дано их физико-географическое описание.

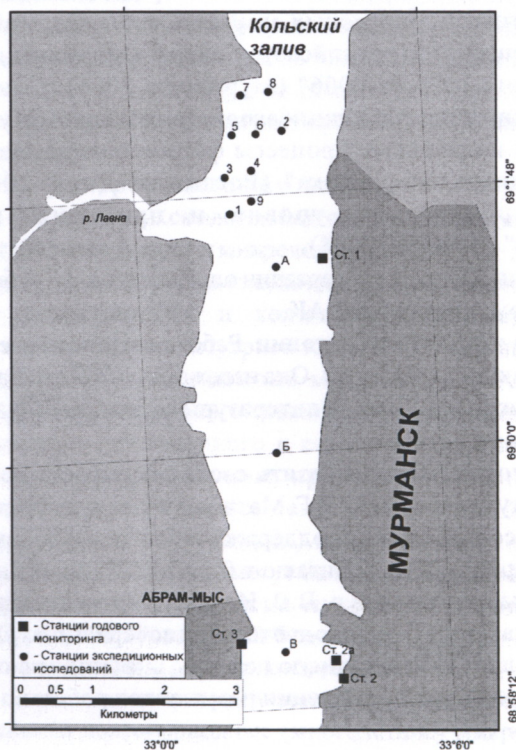


Рис. 1. Карта-схема расположения станций отбора проб в южном колене Кольского залива (ст. 1,2,3 - 2002-2003 гг.; ст. 2а; А-Б-В; 1-9 - 2006 г. и 2008-2009 гг.).

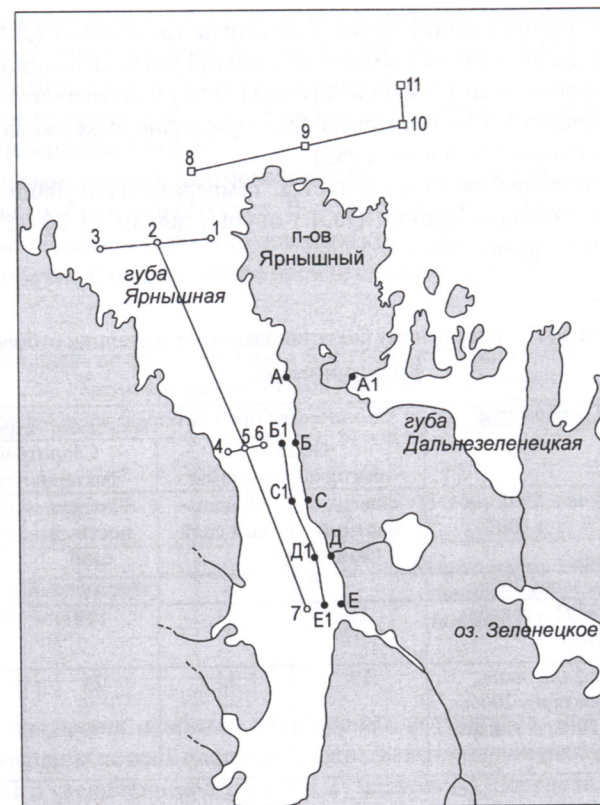


Рис. 2. Карта-схема расположения станций отбора проб в прибрежье Восточного Мурмана: губа Дальнезеленецкая (ст. А1 - 1996 и 1997 гг.) и губа Ярнышная (ст. В - 1996 и 1997 гг.; ст. А-Е; Б1-Е1; 1-11 - 2002 г.).

В Кольском заливе исследования бактериопланктона проводили в южной его части на 4 станциях. Пространственное распределение бактерий изучали в ходе разовых съемок. Район отбора проб представлен на рисунке 1.

В губах Дальнезеленецкой и Ярнышной бактериопланктон исследован на литоральных и глубоководных станциях представленных на рисунке 2.

Измерение температуры воды и отбор проб на микробиологический анализ и определение солености проводили стандартными гидробиологическими методами в последний водный час прилива: с поверхностного горизонта (0.3 м) - стерильной стеклянной емкостью, с придонного - пластиковым батометром Нискина, предварительно обработанным спиртом. В зависимости от гидрологического сезона периодичность отбора проб в заливе изменялась от 2-3 до 6-8 раз в месяц. В губах пробы отбирали подекадно.

Материал по Кольскому заливу собран в 2002-2003, 2006 и 2008-2009 гг. (табл. 1). Основной средой при выделении бактерий (2002-2003 гг.) служил

агаризованный водорослевой отвар *Laminaria saccharina* (ЛАМ): 1 кг водорослевой массы кипятили в 1 л морской воды (32 ‰) на медленном огне 1 ч. Отвар (300 мл) доводили до 1 л морской водой (32 ‰) и добавляли очищенный порошковый агар-агар 1.8 ‰. Вода была предварительно выдержана в течение месяца в темноте (Мишустина и др., 1985).

Посев проводили в двух повторностях. Температура инкубации 18 ± 2 °С. Учет колониеобразующих единиц (КОЕ) осуществляли на 20-25 сутки по прекращению образования новых колоний.

Таблица 1

Объем материала по гетеротрофному бактериопланктону и станции отбора проб в Кольском заливе

№ стан-ций	Время отбора проб	Количество проб на определение численности			
		Общего бактериопланктона		Сапротрофного бактериопланктона	
		Поверх-ностный слой	Придон-ный слой	Поверх-ностный слой	Придон-ный слой
1	Февраль-июнь 2002г.	-	-	18	18
1, 2, 3	Ноябрь 2002 – декабрь 2003 гг.	31	31	148	30
2а; А, Б, В; 1-9	Март-апрель, июль, сентябрь-октябрь 2006г.; декабрь 2008г.– январь 2009г.	19	15	24	19

Исследования в Кольском заливе трофических групп бактерий на ст. 2а в 2006 г. и в 2008-2009 гг. проводили в соответствии с календарными сезонами: пробы отбирали один раз в неделю, на протяжении трех недель каждого из сезонов.

Олиготрофные бактерии выделяли на "голодном агаре Дифко" (Олейник, 1997), факультативно олиготрофные - на 10 %-ном СПА (Горбенко, 1961), копиотрофные - на СПА. Среды готовили на морской воде, предварительно выдержанной месяц в темноте и разбавленной до 18 ‰ водопроводной водой. Определения проводили в трех повторностях. Посев осуществляли на предварительно охлажденные среды. Сроки инкубации 25-30 сут. при температуре 8 ± 2 °С.

В качестве показателя, отражающего изменения условий существования бактерий в морской среде, использовали индекс K_n , как отношение количества гетеротрофных бактерий, способных к росту на питательных средах (копиотрофные+олиготрофные) к общей численности бактерий, учитываемой методом прямой микроскопии (Ильинский, 2000).

Исследование фильтрующихся клеток, проходящих при фильтрации через бактериальные фильтры с диаметром пор 0.2 мкм, проводили в Кольском заливе

и губах Дальнезеленецкой и Ярнышной. Фильтрат получали, пропуская морскую воду шприцем через предварительно выдержанные в спирте мембранные фильтры с диаметром пор 0.2 мкм (производства г. Дубна). Посев фильтрата осуществляли на среду ЛАМ с соленостью 32 ‰. Посевы инкубировали 30-45 суток при температуре 18 ± 2 °С.

В Кольском заливе и в глубоководных участках губ пробы воды отбирали с поверхностного и придонного слоя. В зоне литорали - с поверхностного слоя. Определение численности фильтрующихся клеток бактерий проводили в двух и трех повторностях. Станции отбора проб представлены в таблице 2.

Таблица 2

Объем материала по фильтрующимся бактериям и станции отбора проб воды в Кольском заливе и губах Восточного Мурмана

Исследуемая акватория	№ станции	Периоды отбора проб	Кол-во проб
Кольский залив	1, 2, 3	Ноябрь 2002 – июнь 2003 г.	136
Губа Дальнезеленецкая и Ярнышная	А1, В А1, В А-В-С-Д-Е; В1-С1-Д1-Е1; 1-11	Март-октябрь 1996 г., Июнь-июль 1997 г. Июнь-август 2002 г.	104

Для получения наиболее достоверных результатов, подсчет выросших колоний проводили по всей площади чашки с использованием стереоскопической лупы МБС-1 с увеличением 8 x 4 и 8 x 2 (Чепурнова, Лебедева, 1972; Россова, Гаран, 1982).

Общее число бактерий и их биомассу (2002-2003 и 2006 гг.) определяли микроскопическим методом с применением мембранных фильтров с диаметром пор 0.1-0.2 мкм (производство г. Дубна), окрашенных флуорескаминам (Поглазова, Мицкевич, 1984; Байтаз, Байтаз, 1995). Размеры клеток измеряли при помощи линейного окуляр-микрометра, объемы вычисляли по формулам объемов шара, цилиндра и эллипсоида. Биомассу получали путем умножения их численности на средний объем клеток. При расчете биомасс применяли коэффициент 1.6, рекомендуемый к использованию для "сухих" бактериальных препаратов (Сорокин, 1973; Современные..., 1983).

Все значения микробиологических показателей, приводимые в работе, представлены в виде арифметического среднего. Статистический анализ выполнен по Закс, 1976.

Из выросших колоний фильтрующихся ультрамикробактерий были приготовлены препараты клеток для электронной микроскопии. Клетки заключали в эпоксидную смолу по общепринятой методике. Ультратонкие срезы получали с помощью микротомы KB-111. Срезы окрашивали уранил-ацетатом и нитратом свинца. Готовые препараты микроскопировали.

Автору принадлежит сбор материала для работы и обработка 496 проб морской воды культуральным методом. Соленость морской воды определена Д.В. Широколовым (ММБИ КНЦ РАН) на стационарном электросолемере ГМ-65. Общая численность и биомасса бактериопланктона определены к.б.н. С.И. Барданом (ММБИ КНЦ РАН) на микроскопе МЛД - 1У1.1 с увеличением $\times 1080$. Электронные фотоснимки ультрамикрочеток выполнены на базе лаборатории морфологии бактерий НИИ микробиологии и эпидемиологии им. Н.Ф. Гамалеи под руководством д.б.н. Л.В. Диденко на микроскопе JEM-100B при увеличении от 14000 до 50000.

Глава 3. Особенности гидрологического режима и характеристика бактериопланктона пелагиали Кольского залива

3.1. Динамика и особенности распределения гидрологических параметров в пелагиали Кольского залива.

Исследования температуры, проводимые в 2002 и 2003 гг. в южном колене залива показали, что ее распределение по сезонам в целом соответствовало среднегодовым показателям по Мурманскому побережью. В поверхностном слое ст. 1 (рис. 1) был выявлен значительный диапазон ее изменений (от -1.6 до 10.9 °С) при среднегодовом значении 2.6 °С.

В поверхностном слое двух других, южнее расположенных станций (№ 2 и 3), диапазон изменения температуры составил от -1 до 9.8 °С при среднегодовой величине 3.2 °С.

В придонных водах отрицательных температур отмечено не было, их колебания были более сглаженными. Разность между максимальным и минимальным показателями была вдвое меньше, чем на поверхности и составляла 6.4 °С.

Минимальная температура в придонном слое отмечена в конце марта и апреле ($0.8-1.8$ °С). К летнему периоду она медленно возрастала, и вплоть до второй декады ноября воды оставались прогретыми до 7 °С.

Разность между значениями температур в поверхностном и придонном слоях в зимний период составляла около 2.9 °С. Ближе к концу апреля была выявлена полная гомотермия водной толщи. Вплоть до середины мая разность температур между поверхностным и придонным слоем составляла менее одного градуса, достигая максимальных значений в летний период - около 5.1 °С.

Исследования солености выявили значительное опреснение поверхностного 0.3 - метрового слоя. В 2003 г. средняя соленость не превышала 18.5 ‰ (мин. - 8.6 , макс. - 25.6) на участках ст. 1 и 3 и 16.5 ‰ (мин. - 6.6 , макс. - 24.2) - на участке ст. 2.

В горизонтальном распределении солености наблюдалось ее увеличение в северном направлении вдоль восточного берега. Разность значений между второй и первой станциями в среднем составляла 2.0 ‰.

Соленость слабо трансформированного пресным стоком придонного слоя характеризовалась незначительными колебаниями около среднего показателя 33.1 ‰. В 2002 г. распределение вод до $28-29$ ‰ единично отмечено в апреле и июне, до 25 ‰ - в мае. В 2003 г., при большем числе наблюдений, - в марте (29.4 ‰).

В южном колене залива, на мористом его участке (ст. 1), устойчивые различия в солености между поверхностными и придонными водами наблюдались в течение всего периода исследований. Минимальные значения они принимали (при средней глубине на станции 11 м) в феврале и декабре, максимальные - с марта-апреля по июнь. Разность значений солености между поверхностным и придонным слоем в среднем составляла 14.6 ‰, изменяясь от 5.8 до 30.8 ‰ в течение всего периода наблюдений.

На основании результатов измерений солености и температуры, проводимых в 2002-2003 гг. на вдольбереговых участках залива (ст. 1, 2, 3) установлено, что поверхностный 0.3 м слой круглогодично представлен распресненными водами соленостью около 17.7 ‰, с широким диапазоном изменений гидрологических показателей. Придонный слой более теплых, слабо трансформированных морских вод имел соленость около 33.1 ‰ и по гидрологическим характеристикам соответствовал водам открытого побережья. Выделенные в водной массе поверхностная (из смешанных морских и пресных вод) и придонная (квазиоднородная) области, по гидрологическим параметрам являются двумя различными биотопами, устойчивость которых, постоянно поддерживается системой стационарной циркуляции (Потанин, Норина, 1981; Кольский..., 1997).

3.2. Состав, закономерности динамики и особенности распределения бактериальных сообществ пелагиали Кольского залива.

Бактериальные сообщества каждого из биотопов различались по своему составу, численности, биомассе и особенностям сезонной динамики.

Общая численность и биомасса бактериопланктона поверхностного слоя (на примере ст. 1) в два-три раза превосходила аналогичные показатели придонного. Диапазон их изменений составлял: $140-2600$ тыс. кл/мл (в среднем 842 тыс. кл/мл) и $0.09-1.7$ г/м³ (в среднем 0.6 г/м³) в поверхностном биотопе и $147-1100$ тыс. кл/мл (в среднем 344 тыс. кл/мл) и $0.04-1$ г/м³ (в среднем 194 мг/м³) в нижнем.

Минимум обилия клеток отмечен в зимний сезон (550 тыс. кл/мл), максимум - в летний (1500 тыс. кл/мл). Минимум биомасс был приурочен к лету (482 мг/м³), максимум - к осени (961 мг/м³). Летом низкие значения биомасс в более прогретых водах, вероятно, связаны с увеличением числа активно делящихся клеток. Их уменьшающиеся при этом объемы сказываются на расчетных показателях (Байтаз, 1998).

В придонном слое минимум развития сообщества отмечен в зимний период (165 тыс. кл/мл, 105.3 мг/м³), максимум - в весенний (478 тыс. кл/мл, 291.6

мг/м³). Численность бактериопланктона в начале летнего сезона (313 тыс. кл/мл) была сопоставима с численностью осеннего сезона (351 тыс. кл/мл). Биомассы сообщества осеннего периода (208.9 мг/м³) в 1.4 раза превышали летние показатели (147.2 мг/м³).

В поверхностном биотопе в зимний период повышенными средними значениями численности бактериопланктона выделялись воды северной (мористой) ст. 1 (1060 тыс. кл/мл, 812 мг/м³), пониженными - воды южнее расположенных ст. 2 (654 тыс. кл/мл, 335 мг/м³) и ст. 3 (472 тыс. кл/мл, 445 мг/м³). В летний период ситуация изменилась и к концу июня общая численность и биомасса бактерий на ст. 1 была ниже (1747 тыс./мл и 537 мг/м³) чем на ст. 2 (2706 тыс., кл/мл и 693 мг/м³).

Обилие микроорганизмов в водах поверхностного биотопа залива хотя и превышало большинство приводимых среднегодовых значений по Мурманскому побережью (Кузнецов и др., 1996; Байтаз, Байтаз, 1991; Байтаз, 1998) однако за пределы их максимального показателя не выходило. Биомассы клеток в слое смешанных вод превышали среднегодовые значения в прибрежье в среднем в 2.4 раза, косвенно свидетельствуя о присутствии повышенных концентраций органического вещества (ОВ) на акватории залива.

В придонном биотопе максимальные значения численности (миллион клеток в мл) и биомассы (грамм в м³) клеток превышали таковые по прибрежью (Байтаз, Байтаз, 1991; Мишустина и др., 1997), однако в среднем показатели их обилия были сопоставимы с показателями как прибрежных, так и открытых районов моря.

В микробных сообществах двух биотопов доминировали клетки округлой формы. Палочки и эллипсоиды занимали второе и третье место. Доля кокков, палочек и эллипсоидов в общем бактериопланктоне поверхностного слоя составляла (в %) 67, 25 и 4, придонного - 73, 18 и 5 соответственно.

Наибольший вклад в биомассу сообщества поверхностного и придонного слоев вносила морфологическая группа палочек (62 и 51 % соответственно). Менее значимой была биомасса кокков и эллипсоидов. Их доля в микробной биомассе поверхностного биотопа составляла 18, придонного - 29 %, эллипсоидов - 13 и 17 % соответственно.

Показатели качественного состава бактериопланктона Кольского залива были аналогичны показателям микробных сообществ прибрежных экосистем, в которых вклад в суммарную численность кокков изменялся от 25 до 84 %, а палочек - от 4 до 39 % (Байтаз, 1998).

Умеренно галофильные и галотолерантные бактерии, активно образующие колонии на среде соленостью 32 ‰, представляли значительную часть жизнеспособного бактериального населения южной части залива. Их численность в водах поверхностного биотопа в среднем составляла: на ст. 1 - 13 тыс. КОЕ/мл, на ст. 2 и 3 - 6.0 тыс. и 7.6 тыс. КОЕ/мл, соответственно.

Средние показатели обилия бактерий в поверхностном биотопе были минимальными зимой, в период повышенной солености вод: 9.1 тыс. КОЕ/мл (ст. 1); 3.9 тыс. КОЕ/мл (ст. 2) и 4.1 тыс. КОЕ/мл (ст. 3) и максимальными летом, при пониженной солености (30.6 тыс. КОЕ/мл (ст. 1); 9.2 тыс. КОЕ/мл (ст. 2) и 14 тыс. КОЕ/мл (ст. 3).

Сезонная динамика численности жизнеспособных бактерий характеризовалась наличием периодов повышенных значений (десятки тысяч КОЕ/мл), не зависящих от температуры и солености воды (рис. 3). В поверхностном биотопе на ст. 1 их дважды фиксировали в апреле и декабре. Весной, при подъеме численности, ее средние значения составляли в 2002 г. - 11.8 тыс. с максимумом 17.2 тыс. КОЕ/мл, в 2003 г. - 17.3 тыс. с максимумом 23.4 тыс. КОЕ/мл. Зимой в 2002 г. - 14.2 тыс. с максимумом 18.1 тыс. КОЕ/мл, в 2003 г. - 17.7 тыс. с максимумом 30.8 тыс. КОЕ/мл.

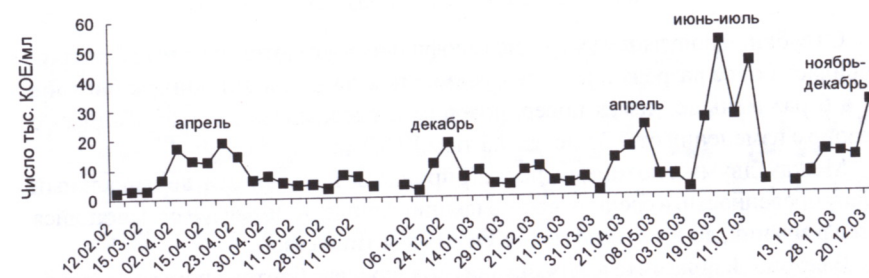


Рис. 3. Сезонная динамика численности умеренно галофильных и галотолерантных бактерий в поверхностном слое южной части Кольского залива (ст. 1) (по данным за февраль 2002 - декабрь 2003 гг.).

Летом 2003 г., в период увеличения численности галофильных клеток, ее средние значения достигали 37.1 тыс. с максимумом 51.7 тыс. КОЕ/мл.

На ст. 2 и 3 в 2003 г., при большем числе наблюдений, зимнего увеличения численности бактерий выявлено не было (рис. 4). Весной его кратковременное появление регистрировали в апреле с меньшими, чем на ст. 1 показателями: 12.3 тыс. (ст. 2) и 12-11 тыс. КОЕ/мл (ст. 3). Летом средние значения в период подъема численности составляли 18.1 тыс. (ст.2) и 26.6 тыс. (ст. 3) с максимумами 21.1 тыс. и 40.5 тыс. КОЕ/мл соответственно.

В наиболее продолжительные отрезки времени, не связанные с резким увеличением численности адаптированных к морской солености бактерий, их горизонтальное распределение можно было охарактеризовать как равномерное со средней плотностью около 5 тыс. КОЕ/мл. При этом значительный фонд галлофилов в сообществе стабильно сохранялся как при увеличении, так и при уменьшении доли пресного стока.

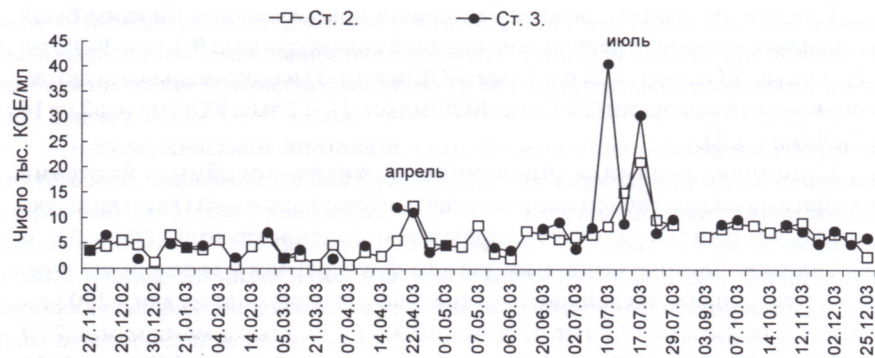


Рис. 4. Сезонная динамика численности умеренно галофильных и галотолерантных бактерий в поверхностном слое южной части Кольского залива (ст. 2 и 3) (данные с ноября 2002 по декабрь 2003 гг.).

С глубиной популяция умеренно галофильных и галотолерантных бактерий становилась более разреженной - ее средние показатели в придонном биотопе были в 6 раз меньше, чем в поверхностном и составляли 1.6 тыс. КОЕ/мл в диапазоне изменений от 0.2 тыс. до 9.3 тыс. КОЕ/мл.

Между двумя биотопами регистрировался постоянный вертикальный градиент численности, в среднем составлявший 8.6 тыс. КОЕ/мл и изменяющийся от сотен в зимний, до десятков тысяч КОЕ/мл в летний сезон.

В сезонной динамике микроорганизмов нижнего биотопа повторяющиеся периоды повышенной численности сопровождались показателями свыше тысячи КОЕ/мл (рис. 5), не связанными с понижением солёности. Исключение составил пик микроорганизмов в мае (4.1 тыс. КОЕ/мл), вызванный максимальным распреснением придонных вод до 24.6 ‰. В отсутствие резких подъёмов количественных показателей бактерий, их обилие в придонном слое в среднем составляло 0.6 тыс. КОЕ/мл.

Весной, при подъёме численности, ее средние значения составляли в 2002 г. - 1.7 тыс. (максимум 2.0 тыс.), в 2003 - 2.7 тыс. (максимум 3.9 тыс.). Летом в 2002 г. - 5.9 тыс. (максимум 9.3 тыс. КОЕ/мл), в 2003 г. - 4.3 тыс. (максимум 5.4 тыс. КОЕ/мл). Зимой в 2002 г. - 2.3 тыс. (максимум 2.8 тыс. КОЕ/мл), в 2003 г. - 2.4 тыс. (максимум 2.9 тыс. КОЕ/мл).

Весеннее увеличение числа адаптированных к солёности бактерий, по-видимому, определялось поступлением свежесинтезированного органического вещества (ОВ) в экосистему южного колена одновременно от нескольких источников. Ими могли быть как макро- и микрофитобентические сообщества Мурманского побережья и обширных литоральных отмелей южного колена (Кузнецов, 1988; 1991; Макаров, Шошина, 1996; Витченко, 2005), так и планктонные альгоценозы северной и средней части Кольского залива (Матишов и др., 2000).

Летнее увеличение, наиболее выраженное на мористом участке акватории, очевидно, было вызвано поступлением органики после вспышки "цветения" популяции *Eutreptia lanowii* (Трофимова, 2004).

Зимой, при затухании процессов первичного синтеза, подъем численности гетеротрофных бактерий фиксировали лишь на участке ст. 1. Одной из возможных причин подъема может служить поступление в пелагиаль ОВ от разложившейся органики донных осадков, детрита, отмерших макрофитов, обрастаний и т.д. в результате увеличения штормовой активности в прибрежье (Терещенко, 1999; 2000). Например, в декабре следствием максимальных по силе штормов явилось присутствие в пелагиали южного колена большого количества видов фитопланктона бентосного и перифитонного происхождения (Дружкова, 2009).

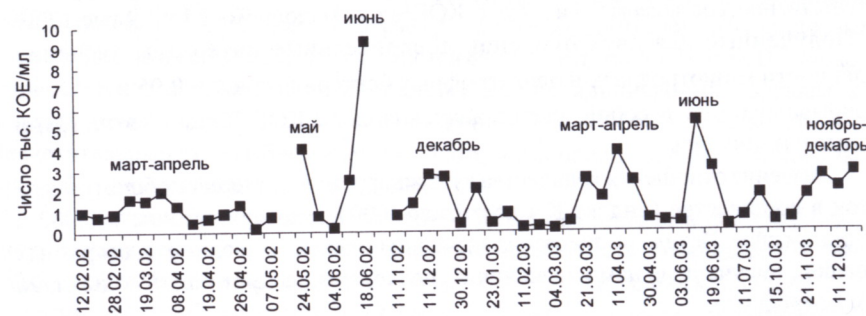


Рис. 5. Сезонная динамика численности галофильных и галотолерантных бактерий в придонном слое южной части Кольского залива (ст. 1) (по данным за февраль 2002 - декабрь 2003 гг.).

В результате исследования не выявлено линейной зависимости количества умеренно галофильных и галоустойчивых бактерий от солёности. Видимо ее величина в поверхностном слое, определяемая процессами простого механического перемешивания при существующих скоростях приливо-отливных течений, не выходила за пределы пороговой толерантности этих форм. В тоже время в масштабе сезонных наблюдений из всего комплекса абиотических факторов, влияющих на бактериальные сообщества, ведущими являлись именно солёность и определяющие ее объёмы пресного стока (Мишустина и др., 2006).

3.3. Трофическая структура гетеротрофного бактериопланктонного сообщества Кольского залива.

Определение трофической структуры бактериопланктона Кольского залива проводили в календарные сезоны на ст. 2а, расположенной в 60 м от ст. 2, в зоне берегового ковша с частичным искусственно зарегулированным водообменом.

Исследования в конце марта - начале апреля были приурочены к окончанию зимнего гидрологического сезона. При этом средние показатели

бактериопланктона в поверхностных распресненных водах (16.2 ‰) составляли 1.4 млн. кл/мл и 0.8 г/м³, в придонных морских (32.0 ‰) - 0.6 млн. кл/мл и 0.2 г/м³. В морфологическом составе сообщества поверхностного биотопа доля доминирующих форм клеток достигала: кокков 65, палочек 18 и эллипсоидов 6 %, придонного - 73, 12 и 7 %, соответственно. Определяющий вклад в биомассу двух сообществ вносили крупные клетки палочковидной и эллипсоидной формы: 40 и 29 % (поверхностный биотоп), 32 и 43 % (придонный биотоп). Доля кокков в их биомассе составляла 18 и 21 %, соответственно.

Трофический состав бактериопланктона весеннего периода был представлен как копиотрофами, так и бактериями олиготрофного комплекса, объединяющего олиготрофные и факультативно олиготрофные бактерии. В поверхностном биотопе средняя численность первой и второй группы, соответственно, составляла 2.3 и 3.7 тыс. КОЕ/мл, в придонном - 1.1 и 1.9 тыс. КОЕ/мл. Полученные для двух биотопов достоверные интервалы значений численности копиотрофных и олиготрофных бактерий (при $\alpha = 0.05$ и $\nu = 8$) не перекрывались между собой, значит, значения числа КОЕ бактерий этих групп значимо различались.

Значение отношения количества культивируемых бактерий к общему числу клеток в сообществе (индекс K_{ii}) достигало 0.004 в поверхностном и 0.002 в придонном слое. Исходя из диапазона значений индекса, приводимого для разных типов вод, полученные нами значения K_{ii} позволяют рассматривать воды ст. 2а как мезотрофные.

В середине апреля средние количественные показатели бактериопланктона поверхностного биотопа в центральной части акватории южного колена (1.3 млн. кл/мл и 0.9 г/м³) были сопоставимы с характеристиками прибрежного участка. Их изменения от 1.0 млн. кл/мл и 0.4 г/м³ до 1.6 млн. кл/мл и 1.5 г/м³ превышали лишь диапазон биомассы на ст. 2а. В морфоструктуре микробного сообщества выявлено некоторое повышение содержания кокков. Их доля в процентах, а также доля клеток палочковидной и эллипсоидной формы составляла 75, 15 и 8, соответственно.

В апреле средняя численность трофических групп бактериопланктона центральной части залива достигала: копиотрофов - 4.7 тыс. КОЕ/мл, бактерий олиготрофного комплекса 5.9 тыс. КОЕ/мл, почти в 2 раза превышая средние показатели ст. 2а при сопоставимой солености этих участков. Значения индекса K_{ii} изменялись от 0.01 до 0.008, свидетельствуя об увеличении активности бактерий, возможно, связанной, с прогревом поверхностных вод к середине апреля до 2.3 °С и активизацией в этот период микрофитобентосных альгоценозов (Витченко, 2005).

Значительная соленостная стратификация, отмечаемая весной, была также характерна для вод летнего периода исследований. В июле средняя соленость прогретого поверхностного слоя (11.8 °С) на ст. 2а составляла 12.6 ‰, менее теплого придонного (6.6 °С) - 32.8 ‰. Воды глубоководных участков западного берега и

центральной (осевой) части южного колена в этот период характеризовались повышенной соленостью и пониженной температурой. Диапазон их изменений составлял: 20.4-23.8 ‰ и 8.5-10.1 °С в поверхностном слое, 33.6-33.9 ‰ и 5.5-5.8 °С в придонном.

На ст. 2а летом численность и биомасса бактерий поверхностного биотопа в среднем достигали 2.8 млн./мл и 0.7 г/м³, не выходя за пределы максимальных значений, наблюдаемых в прибрежье. Выявленный в этот период всплеск численности клеток достигал 3.3 млн/мл, являясь реакцией на поступление автохтонной органики в биотоп. В придонном биотопе показатели обилия (0.9 млн. кл/мл, 0.3 г/м³) были соизмеримы со среднемноголетними данными морских прибрежных вод (Кузнецов и др., 1996; Мишустина и др., 1997; Байтаз, 1998).

В морфоструктуре микробных сообществ летнего периода доминировали клетки кокковой и палочковидной формы. Их доля в общей численности составляла соответственно 84 и 13 % в поверхностном и 89 и 9 % в придонном слое. В биомассе сообщества доля кокков, палочек и клеток эллипсоидной формы составляла в поверхностном слое 37, 35 и 19 %, в придонном - 24, 43 и 18 %, соответственно. Незначительный вклад в биомассу двух биотопов вносили вибрионы, спираиллы и разнообразные нитчатые формы клеток.

Пространственное распределение бактериопланктона в поверхностном биотопе характеризовалось увеличением его численности и биомассы (1.7 млн. кл/мл и 0.5 г/м³) от центрального вдоль осевого участка залива к западному (2.2 млн. кл/мл и 0.9 г/м³) и восточному (2.8 млн. кл/мл и 0.7 г/м³) берегам. В придонном биотопе, с глубинами от 14 до 23 м, картина пространственного распределения микроорганизмов была иной. Минимальные средние показатели, характерные для центрального и западного участков залива (0.2 млн. кл/мл, 0.1 г/м³), увеличивались в направлении восточного берега (до 0.9 млн. кл/мл и 0.3 г/м³).

Распределение бактерий в поверхностном и придонном биотопах характеризовалось повышением доли кокковых клеток от центрального осевого участка (74 и 82 %) в западном (79 и 84 %) и восточном (84 и 89 %) направлениях. При этом в поверхностном слое отмечено незначительное повышение доли палочковидных клеток к западному и восточному берегам, в придонном в этих же направлениях снижалась доля эллипсоидных форм.

В общей биомассе сообществ поверхностного биотопа доля кокков, палочек и эллипсоидов соответственно составляла 20, 47 и 21 % на участке вдоль осевой линии залива; 37, 35 и 19 % - на восточном; 24, 52 и 16 % - на западном. В придонном биотопе доля в суммарной биомассе кокков, палочек и эллипсоидов была 20, 54 и 24 % на центральном; 24, 43 и 19 % - на восточном; 11, 60 и 29 % - на западном участке залива. Сходство между микробными сообществами залива и прибрежья Мурмана в этот период определяли доминирующие в них по численности кокковые, а по биомассе - палочковидные клетки (Байтаз и др., 1996; Байтаз, Байтаз, 1991).

В экологической структуре бактериопланктона летнего периода на ст. 2а копиотрофы и бактерии олиготрофного комплекса в среднем составляли 21 тыс. и 178 тыс. КОЕ/мл в поверхностном слое и 0.8 тыс. и 33 тыс. КОЕ/мл в придонном. Диапазон колебания численности олиготрофных бактерий был минимальным по сравнению с представителями двух других экологических групп, как в поверхностном (105-285 тыс. КОЕ/мл), так и в придонном слое (37-71 тыс. КОЕ/мл). На фоне летних повышенных значений гетеротрофных бактерий был выявлен всплеск численности представителей исследуемых трофических групп, по времени совпадающий с появлением автохтонной органики, вызванный деградацией микрофитоценоза после массового цветения *Eutreptia lanowii* (Трофимова, 2007).

Летние значения индекса K_{ii} на ст. 2а, по сравнению с весенними, возросли на порядок и свидетельствовали о высоких темпах размножения гетеротрофных бактерий. Показатели K_{ii} изменялись от 0.05-0.1 в поверхностном до 0.04-0.06 в придонном слое и, вероятно, определялись прогревом водных масс и появлением повышенных концентраций лабильного ОВ. Полученные величины индекса позволяли охарактеризовать воды южного колена как мезотрофные, приближающиеся по уровню развития микробных сообществ к нижней границе евтрофных вод (Ильинский, 2000). После вспышки "цветения" количественные показатели бактериопланктона соответствовали уровню его развития в евтрофных морских водах (Сорокин, 1973; 1977).

Микробиологические исследования поверхностного слоя глубоководных участков акватории залива показали, что средние значения числа КОЕ копиотрофных бактерий и бактерий олиготрофного комплекса составляли десятки и сотни тыс. в мл соответственно, как на станции 2а в период полной воды, так и на станциях единовременной съемки, выполненной без учета фаз приливного цикла (рис. 6).

В придонном слое ст. 2а с более прогретой водной массой плотность бактерий олиготрофного комплекса была на порядок выше аналогичного

показателя станций западного берега и центральной части залива. При этом численность микроорганизмов, отдающих предпочтение богатым белковым средам, независимо от района отбора проб, была одинаково низкой и не превышала сотен КОЕ/мл.

Величина индекса K_{ii} для вод центральной и западной части акватории изменялась от 0.08-0.2 в поверхностном, до 0.01-0.06 в придонном слоях и была сопоставима с показателями мелководного участка ст. 2а.

Данные пространственного распределения культивируемых форм гетеротрофных бактерий в летний период, представленные на рис. 6, свидетельствуют о сохранении в поверхностном слое тенденции, выявленной для общего бактериопланктона - число жизнеспособных клеток увеличивается от центра залива в западном и восточном направлениях. Возможно, это связано с усилением действия так называемого краевого эффекта в контактных областях водной массы и берега, где оптимальное сочетание факторов может способствовать увеличению содержания ОВ (Хайлов, 1982).

В придонном слое величина числа КОЕ культивируемых бактерий возрастала от оси залива лишь в восточном направлении (рис. 7). В сторону западного берега число КОЕ повышалось незначительно, вероятно в связи с более равномерным распределением как гидрологических параметров, так и низких концентраций растворенного ОВ в придонной баренцевоморской водной массе.

Анализ пространственного распределения экологических групп бактерий позволяет экстраполировать полученные данные на слой смешанных вод с интервалом солености от 15 до 23.8 ‰.

Начало осенних гидрологических исследований на ст. 2а совпало с периодом инверсии температуры водных масс южного колена. Средняя соленость поверхностного водного слоя была 12.9 ‰, придонного - 32.7 ‰.

Значения общей численности и биомассы бактериопланктона в этот период продолжали оставаться повышенными. Их средние показатели в поверхностном биотопе составляли 2 млн. кл/мл и 0.6 г/м³, в придонном - 0.8 млн. кл/мл и 0.2 г/м³.



Рис. 6. Пространственное распределение трофических групп бактерий в поверхностном слое южного колена Кольского залива летом 2006г.

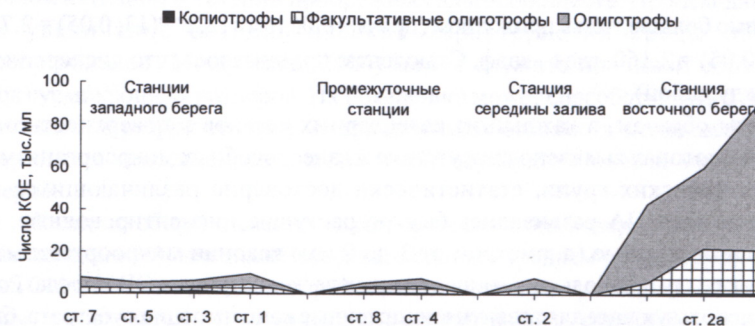


Рис. 7. Пространственное распределение трофических групп бактерий в придонном слое южного колена Кольского залива летом 2006 г.

Доминирующее положение по численности, как и в летний сезон, занимали кокковые (85 %) и палочковидные (13 %) клетки в поверхностном биотопе. Их вклад в биомассу вместе с эллипсоидными формами составлял соответственно 27, 53 и 11 % в поверхностном и 45, 37 и 18 % в придонном слое.

В бактериопланктоне осеннего периода наблюдалось уменьшение численности представителей трофических групп бактерий. В поверхностном биотопе численность копиотрофных бактерий и бактерий олиготрофного комплекса соответственно составляла 7 тыс. и 72 тыс. КОЕ/мл, в придонном - 2 тыс. и 12 тыс. КОЕ/мл.

Значения индекса K_n осенью изменялись в поверхностном слое от 0.004 до 0.08, в придонном - стабильно сохранялись на уровне 0.005. Нижняя граница индекса свидетельствовала о начальных этапах снижения темпов развития бактериальных сообществ, сопровождаемых уменьшением их количественных показателей. Полученные в осенний период величины K_n позволяют характеризовать воды на участке ст. 2а как мезотрофные.

Заключительным этапом в изучении эколого-трофического состава бактериопланктона на ст. 2а явились исследования в зимний период. Средние значения температуры и солености в поверхностном водном слое составляли 2.7 °C и 19.2 ‰, в придонном соответственно 5.2 °C и 33.6 ‰.

Ослабление процессов биологической трансформации ОВ в пелагиали прибрежья с наступлением зимнего периода (Бардан и др., 1989) сопровождалось уменьшением доли культивируемых гетеротрофных бактерий. Зимой средняя численность олиготрофного комплекса микроорганизмов в поверхностном водном слое составляла 18 тыс. КОЕ/мл, в придонном - 4 тыс. КОЕ/мл. Копиотрофы занимали подчиненное положение в сообществе. Их значения убывали с глубиной от 4 тыс. до 0.2 тыс. КОЕ/мл.

Статистический анализ показал, что во все, кроме весны, периоды наблюдений при равных объемах выборки $n = 9$ доверительные интервалы значений численности копиотрофных и олиготрофных бактерий двух биотопов перекрывались. Однако, численность каждой из групп в поверхностном биотопе была значимо больше, чем в придонном (при $\alpha = 0,05$ и $v \approx 13$, $t^{эсп}(13; 0,05) = 2.786 > t^{табл}(13; 0,05) = 2.160$, где t - коэф. Стьюдента; принималось, что дисперсии не равны между собой).

Таким образом, в каждый из календарных сезонов в поверхностном и придонном биотопах выявлено присутствие жизнеспособных микроорганизмов разных трофических групп, статистически достоверно различающихся по численности. На СПА развивались быстро растущие пигментированные, по большей части крупные (диаметром от 3 до 9 мкм) колонии микроорганизмов, способных к росту при больших концентрациях легкодоступных ОВ в среде. Рост бактерий, использующих для развития пониженные концентрации субстрата, был несколько замедлен, их колонии были лишены пигмента и имели размеры около 1 мкм. Одной из причин наблюдаемого разнообразия эколого-трофического состава

бактериопланктона в заливе может служить дискретность поступления органических веществ в водную среду (Мишустина и др., 1985).

Глава 4. Фильтрующиеся клетки в бактериопланктоне Кольского залива и губ Восточного Мурмана.

В Кольском заливе фильтрующиеся бактерии исследовали на 1, 2 и 3 станциях южного колена в 2002-2003 гг. Характерной чертой динамики клеток минимальных размеров явились периоды их полного отсутствия в поверхностном и придонном биотопах, чередующиеся с периодами роста численности, достигающей десятков тысяч КОЕ/мл. Обилие этих форм было выявлено в поверхностном слое мористого участка залива (ст. 1), где зарегистрирована максимальная для всего периода исследований численность бактерий этой группы (17 тыс. КОЕ/мл), что составило 0.78 % от общего числа всех клеток, учтенных методом эпифлюоресцентной микроскопии.

В придонных слабо трансформированных водах количество фильтрующихся бактерий было минимальным и в среднем составляло 0.6 тыс. КОЕ/мл.

В сезонной динамике численности клеток минимальных размеров повышение ее значений в поверхностном биотопе было наиболее выражено в зимний, весенний и летний сезоны. Зимой среднее для акватории залива количество фильтрующихся клеток изменялось от 0.8 до 2.1 тыс. КОЕ/мл. Их максимальная численность отмечена в декабре при переходе морской биоты к режиму функционирования характерному для полярной ночи (Мишустина и др., 2006). Вынужденное пребывание микробных сообществ в этот период в условиях голодания по источнику углерода и энергии может сопровождаться уменьшением размеров клеток у части популяций с сохранением их метаболической активности (Макаров и др., 1998).

Весенний подъем численности фильтрующихся бактерий в большинстве случаев не превышал показателей, отмеченных для зимнего сезона, и был связан с началом активной вегетации прибрежных альгосообществ. Происходящее при этом увеличение антибиотических характеристик среды обитания микроорганизмов (Мишустина, 2004) может служить причиной образования клеток субмикронных размеров. Их появлению может способствовать и активное снеготаяние, в результате чего из привносимых стоками в залив аллохтонных бактерий под действием солености также образуются клетки минимальных размеров.

Исходя из общей численности бактериопланктона поверхностного биотопа, составляющей в течение зимне-весеннего сезона в среднем по акватории южного колена 644 тыс. кл/мл, доля бактерий, проходящих через фильтр с диаметром пор 0.2 мкм, и, следовательно, не вошедших в этот показатель, составляла около 0.2 %.

Периодом наиболее массового появления фильтрующихся клеток в пелагиали южного колена следует считать летние месяцы. Их средняя численность

для поверхностного биотопа в июне составила 2.2 тыс., в июле - 2.7 тыс. КОЕ/мл. Диапазон изменения величины этого показателя составлял от 0 до 10 тыс. КОЕ/мл, что, возможно, было обусловлено сукцессионной сменой видовых комплексов пелагических микропродуцентов (Макаревич, 1997; 2004). Доля клеток минимальных размеров от общего числа бактерий летом составила в среднем 0.1 %.

В летний период присутствие этих форм в пробах морской воды не было постоянным. Изменение численности могло достигать нескольких порядков величин. Увеличение количества фильтрующихся бактерий в заливе наблюдалось на фоне "цветения" эвгленовых водорослей. Максимум клеток минимальной величины совпадал с максимумом численности *Eutreptia lanowii*, составляющей на ст. 2 в этот момент 16 млн. кл/мл (Трофимова, 2004). В пробе, взятой непосредственно из зоны медленно дрейфовавшего водорослевого пятна, количество фильтрующихся бактериальных клеток достигало 50 тыс. КОЕ/мл при обилии *E. lanowii* - 36 млн. кл/мл.

Наблюдаемая реакция микробного сообщества, очевидно, определялась выраженным ингибирующим эффектом повышенных концентраций метаболитов, продуцируемых фотосинтетиками этой систематической группы (Das et al., 2005). Под влиянием таких веществ (Мишустина, Каменева, 1981) у бактерий может изменяться клеточная стенка, и они легко проходят через поры фильтра 0.2 мкм при фильтрации.

Таким образом, данные, полученные при исследовании вод Кольского залива, свидетельствуют о наличии определенной сезонной динамики в численности бактерий минимальных размеров, связанной с целым рядом экологических событий. Это и переход микроорганизмов из состояния "пира" к состоянию "голода" в полярную ночь, и резкое увеличение доли пресного стока в водных массах залива, а также "цветение" микроводорослей с выделением в среду метаболитов, обладающих ингибирующим эффектом.

Во всех рассмотренных ситуациях разрыв между общим числом бактерий в морской воде и числом культивируемых фильтрующихся форм сокращался на 2-3 порядка величин. Недоучет проходящих в фильтрат клеток ведет к занижению расчетных показателей биомассы и продукции бактериальных сообществ.

Исследование методом электронной микроскопии колоний, выросших на плотной среде при посеве фильтрованных проб морской воды со ст. 1 показало, что состав образующих их клеток был неоднороден.

На рисунке 8 (а-е) приведены фотографии клеток, выделенных из бесцветной колонии диаметром не более 2 мм, образованной при посеве на среду фильтрованной пробы, отобранной из слоя смешанных вод. От клетки палочковидной формы с неровной клеточной стенкой отделялись структуры неправильной формы (рис. 8, в), сходные с формами бактерий, обнаруженных в образцах арктического льда, имеющих возраст 2 млн. лет (Soina et al., 2004). Они рассматриваются как покоящиеся формы бактерий или "уродцы" (dwarf forms).

В той же колонии (рис.8, а-в) наблюдали кокковидные и овальной формы клетки, часто с дефектной клеточной стенкой, а также крупные шарообразные формы - сферопласты и клетки, окруженные пиллями или ворсистыми выростами. На рисунке 8(е) рядом с крупной клеткой из этой же колонии располагалась цепочка небольших клеток.

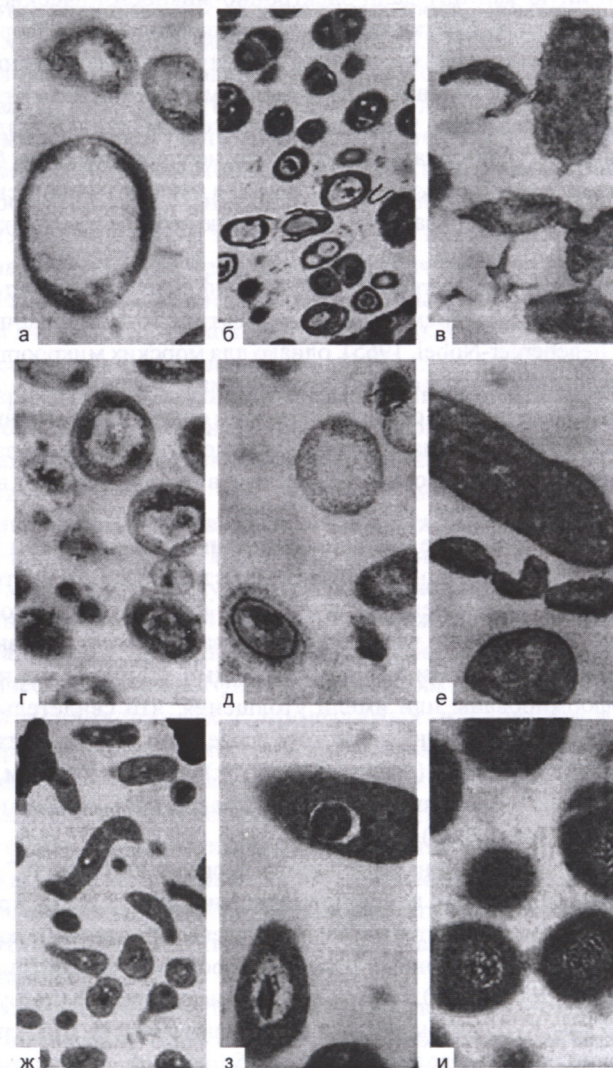


Рис. 8. Электронно-микроскопические фото бактериальных клеток колоний, выросших из фильтрата воды со станции №1: а-д - поверхностный слой; е - придонный слой, декабрь 2002 г.; ж, з, и - поверхностный слой, апрель 2003 г. Ув. (А, в-д) x 50000; (в, ж) x 14000; (е) x 33000; (з, и) x 44000

У колонии с красновато-рыжим пигментом, выделенной из фильтрата придонной воды, также наблюдался полиморфизм клеток (рис. 8, ж). Он проявлялся в их неравноценном делении, неправильной форме клеток, наличии наряду с крупными клетками палочковидной формы округлых клеток с ворсистой поверхностью.

Несколько иную картину дали электронно-микроскопические снимки весенних проб (рис. 8, з, и). Клетки кокковидной и палочковидной формы в это время имели плотную цитоплазму, хорошо видимую и четко ограниченную область нуклеоида. Однако клеточная стенка этих форм бактерий имела утолщения, неровности и пили. Подобные утолщенные клеточные стенки были ранее зафиксированы в старых бактериальных культурах неспорулирующих бактерий *Micrococcus luteus* и *Arthrobacter globiformis* и рассматривались как их цистоподобная форма, обеспечивающая переживание неблагоприятных условий (Сузина и др., 2004).

Достаточно богатый материал о полиморфизме клеток патогенных бактерий был накоплен со времен первых электронно-микроскопических исследований (Klieneberger-Nobel, 1965), однако для морских микроорганизмов такого рода исследования были и остаются крайне малочисленными.

Полученные нами данные свидетельствуют о сложности популяционных взаимоотношений в бактериопланктонном сообществе Кольского залива на протяжении полярной ночи и о сезонных изменениях в его структуре под влиянием активизации микропродуцентов.

Таким образом, сочетание методов электронной микроскопии и посева на плотную среду позволило выявить существование значительного полиморфизма в структуре отдельных популяций бактериальных сообществ Кольского залива. Установлено, что у большинства клеток, вырастающих на плотной среде после посева фильтрата, клеточные стенки были частично повреждены, деформированы или имели утолщения, что свидетельствует о нарушении или изменении обмена веществ у исследуемых микроорганизмов. Длительный срок роста колоний (около 30-45 суток) и гетероморфизм клеток в них не исключает также сложных процессов коагрегации или самосборки бактерий (Мишустина и др., 2006).

В губах Восточного Мурмана исследования проводили в 1996-1997 и 2002 гг.

С марта по октябрь 1996 г. в губе Дальнезеленецкой (ст. А1) и Ярнышной (ст. Б) в воде нижнего горизонта литорали были выявлены значительные количества бактериальных клеток субмикронных размеров, проходящих при фильтрации через фильтры с диаметром пор 0.2 мкм. Средняя численность фильтрующихся форм на ст. А1 (7.2 тыс. КОЕ/мл) была на порядок выше, чем на ст. Б (0.5 тыс. КОЕ/мл), что возможно, определялось местом отбора проб, в первом случае расположенном вблизи жилого поселка. В сезонной динамике клеток было выявлено увеличение их численности в июне и июле.

Проводимые в эти месяцы исследования в 1997 г. показали, что при средней солености воды в нижнем горизонте литорали около 32.2 ‰, численность фильтрующихся клеток в среднем достигала в губе Дальнезеленецкой - 5 тыс. КОЕ/мл (диапазон изменений 1.3-96.3 тыс. КОЕ/мл), в губе Ярнышной - 9 тыс. КОЕ/мл (1.2-29.0 тыс. КОЕ/мл). С максимумом значений этого показателя во вторую декаду июля. При этом в воде верхнего горизонта литорали со средней соленостью 33.4 ‰ численность клеток как в фильтрованных, так и в нефильтрованных пробах воды значительно уменьшалась с удалением от берега, составляя лишь десятки и сотни КОЕ/мл.

По многолетним данным общая численность бактериопланктона, определяемая методом прямого счета на фильтрах с диаметром пор 0.2 мкм, в водах Восточного Мурмана составляла от 600 до 800 тыс. кл/мл (Байтаз, Песегов, 1991; Мишустина и др., 1997). Как следует из полученных нами результатов, в прибрежье присутствовало значительное количество живых, метаболически активных клеток субмикронных размеров, не учитываемых при общем счете бактерий под люминесцентным микроскопом.

В исследованиях, проводимых в 2002 г., количество фильтрующихся форм бактерий в водах литорали не превышало показателей 1997 г. В ее нижнем горизонте оно в среднем равнялось сотням и понижалось до десятков КОЕ/мл в более удаленных от береговой полосы участках.

Следует отметить, что клетки субмикронных размеров были обнаружены методом посева далеко не в каждом образце морской воды. Учитывая их высокую метаболическую активность в прибрежных водах Баренцева моря, определяемую по гетеротрофной ассимиляции углерода (C¹⁴) (Мишустина, Батурина, 1984), одной из возможных причин отсутствия роста колоний на плотной среде при посеве из фильтрата могут являться разные физиологические состояния фильтрующихся бактерий в отобранных пробах.

При исследованиях, проводимых в губе Ярнышной вдоль десятиметровой изобаты, бактерии минимальной величины были выявлены только в поверхностном слое ст. Е1 (сотни КОЕ/мл) с наиболее низкой соленостью 29.6 ‰. В глубоководных участках губы, в августе, средняя численность этих форм достигала в поверхностном слое десятков КОЕ/мл. На глубине 10 м они выявлены не были. В прилегающем участке моря количество клеток субмикронных размеров в поверхностном слое изменялось от 0 до сотен КОЕ/мл. В придонном слое они наблюдались лишь на самой глубоководной ст. 11.

В воде литоральной отмели численность фильтрующихся клеток была минимальной в фазу полной воды. Она повышалась в период отлива и непосредственно сразу после шторма, возможно в связи с увеличением пресного стока в первом случае, и активными гидродинамическими процессами во втором.

Параллельное применение пресных сред позволило установить, что в фазу отлива из ручья в губу в среднем попадало 1.5 тыс. КОЕ/мл жизнеспособных пресноводных бактерий, выделенных посевом из нефилтрованных проб. В сторону моря, вдоль линии уреза воды, в поверхностном слое наблюдалось уменьшение их численности до 0.1-0.3 тыс. КОЕ/мл и увеличение числа растущих на соленой среде бактерий в среднем от 0.8 тыс. до 4 тыс. КОЕ/мл. Фильтрующиеся же клетки вдоль градиента солености устойчиво составляли сотни КОЕ/мл. Наблюдаемое явление свидетельствует в пользу сделанного ранее заключения о возможности образования аллохтонными бактериями в морской среде клеток субмикронных размеров под влиянием повышенных концентраций NaCl (Brisou, 1960; Прозоровский и др., 1981). Фактором, стимулирующим этот процесс, может также являться выраженная антибиотическая активность фукоидов (Трунова, 1979; Коровкина, Богданович, 2004), образующих многочисленные заросли в местах отбора проб воды.

Вырастающие из фильтрата доминирующие беспигментные, округлые колонии, диаметром 1 мм различались по структуре и консистенции. Неоднородность их состава позволяет предположить возможность существования в прибрежных водах ранее обнаруженных в составе бактериальных сообществ микоплазм (Горбенко, 1991), карликовых клеток морских спирохет, образующихся на определенных стадиях их развития (Каменева и др., 1981), бактерий проходящих L-трансформацию в морской воде под влиянием NaCl (Прозоровский и др., 1981) и микровирионов (Мишустина, Батурина, 1984).

Таким образом, из полученных нами данных следует, что в составе общего бактериопланктона побережья Восточного Мурмана диапазон изменения доли культивируемых фильтрующихся форм бактерий составлял 0.1-14 % в зоне литорали и 0.01-0.1 % в удаленных от береговой полосы участках. Обилие клеток субмикронных размеров в губе определялось наличием пресного стока, интенсивностью динамических процессов, удаленностью мест отбора проб от береговой линии и наличием экзометаболических, выделяемых сообществом макрофитов. Одной из возможных причин обнаружения фильтрующихся клеток в пробах открытого побережья может служить разнородность и разнокачественность водных масс в районе исследования (Закономерности..., 1978).

Выводы

1. В Кольском заливе (с глубинами от 7 до 11 м) выявлено круглогодичное и устойчивое разделение пелагиали на поверхностный и придонный биотопы, различающиеся по гидрологическим и микробиологическим характеристикам. Средняя численность и биомасса бактериопланктона биотопа с пониженной

соленостью (в среднем - 16,5 ‰) в 2-3 раза превосходила аналогичные показатели биотопа с повышенной соленостью (в среднем - 32,9 ‰).

2. В морфоструктуре бактериальных сообществ выявлено доминирование кокков и палочек, составляющих в водах поверхностного биотопа 74 и 19 %, придонного - 79 и 14 %, соответственно, от числа клеток всех форм. Определяющий вклад в бактериальную биомассу вносят палочки, кокки и эллипсоидные клетки. Их процентные соотношения имеют вид 48:25:18 для слоя распресненных и 41:30:24 - для слоя морских вод.

3. Численность культивируемых умеренно галофильных и галотолерантных бактерий в поверхностном биотопе зоны смешения морских и пресных вод составляет десятки тысяч КОЕ/мл и убывает с глубиной до уровня тысяч КОЕ/мл. Обилие микроорганизмов этой группы в двух биотопах возрастает при переходе от весны к лету и далее понижается при наступлении осенне-зимнего периода.

4. В сезонной динамике численности адаптированных к солености культивируемых бактерий выявлено 3 максимума их развития - весенний, летний и зимний. Два первых обусловлены повышением концентрации лабильного ОВ при интенсивном отмирании первичных продуцентов. Третий связан с возрастанием штормовой активности в зимний период, приводящей к дополнительным поступлениям ОВ из прибрежных биотопов.

5. Линейной зависимости между соленостью и обилием адаптированных к ней бактерий, в двух выделенных биотопах выявлено не было. От мористой к кутовой части Кольского залива численность этой группы в слое распресненных вод уменьшалась более чем в 2 раза и имела слабо выраженную сезонную динамику.

6. В сообществе гетеротрофных микроорганизмов, адаптированных к солености и низкой температуре, преобладал комплекс олиготрофных и факультативно олиготрофных бактерий. В годовом цикле их численность изменялась от 4 до 180 тыс. КОЕ/мл в поверхностном распресненном биотопе и от 2 до 30 тыс. КОЕ/мл - в придонном с высокой соленостью. Численность копиотрофных бактерий была значительно ниже, изменяясь в диапазоне от 2 до 20 тыс. КОЕ/мл в поверхностном и от 0.3 до 2 тыс. КОЕ/мл - в придонном биотопе. При этом количественные показатели исследуемых групп двух биотопов статистически достоверно различались между собой.

7. В летний сезон в поверхностном и придонном биотопах двумя независимыми методами выявлено увеличение бактериопланктона в направлении от центрального участка залива к восточному и западному берегам, вызванное, возможно, повышенными концентрациями ОВ в контактной зоне море-суша.

8. В бактериопланктоне прибрежной зоны диапазон изменения доли фильтрующихся форм бактерий, культивируемых на плотных средах, составлял 0.1-14 % в зоне литорали и 0.01-0.1 % в удаленных от береговой полосы участках. Обилие клеток минимальных размеров определялось интенсивностью

динамических процессов, удаленностью от береговой линии, наличием пресного стока и экзометаболитов, выделяемых сообществом макрофитов.

9. В сезонной динамике бактериопланктона эстуарной зоны, в водах с разной степенью трансформации пресным стоком, доля фильтрующихся клеток изменялась в годовом цикле от 0.1 до 0.78 %. Периоды продолжительного отсутствия этих форм чередовались с периодами их массового появления. Выявленная нестабильность связана с рядом экологических явлений, включающих переход микроорганизмов от состояния "пира" к состоянию "голода", происходящего с наступлением полярной ночи, резким увеличением доли пресного стока в водах залива, "цветением" микроводорослей.

10. Методом электронной микроскопии было выявлено существование значительного полиморфизма у фильтрующихся микроорганизмов эстуарной зоны, выделенных из колоний на плотной среде. У большинства фильтрующихся форм клеточные стенки были частично повреждены, деформированы или имели утолщения, что свидетельствует о нарушении или резком изменении обмена веществ у таких бактерий по сравнению с обычными.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Мишустина И.Е., Широколобова Т.Н. Бактерии субмикронных размеров в воде, илах литоральной отмели и на поверхности макрофитов в Баренцевом море // ДАН, 1999, т. 365, № № 3, с. 425-427.

2. Широколобова Т.И., Молчановский И.А. Гетеротрофные микроорганизмы Кольского залива // Биологические основы устойчивого развития прибрежных морских экосистем: Тез. докл. междунар. конф. (г. Мурманск, 25-28 апреля 2001г.). Апатиты, 2001. с. 274.

3. Мишустина И.Е., Байтаз О.Н., Москвина М.И., Широколобова Т.И. Микробы и "нанобы" в океане на примере Баренцева моря // Тезисы междунар. конф. "Инструменты, методы и задачи астробиологии VI". Москва, ПИН РАН, 24-25 мая 2002 г. М.: изд-во ПИН РАН, 2002. с. 112-113.

4. Широколобова Т.И. Гетеротрофный бактериопланктон восточной части Баренцева моря // Современные проблемы океанологии шельфовых морей России: Материалы междунар. конф. (г. Ростов-на-Дону, 13-15 июня 2002г.). Мурманск, 2002. с. 270-271.

5. Ишкулова Т.Г., Широколобова Т.И. Мониторинговые наблюдения в прибрежной зоне Западного Мурмана // Современные проблемы океанологии шельфовых морей России: Тезис. междунар. конф. (г. Ростов-на-Дону, 13-15 июня 2002г.). Мурманск, 2002. с. 98-100.

6. Mishustina I.E., Baitaz O.N., Moskvina M.I., Shirokolobova T.I. Microorganisms and nanoorganisms in the ocean the example of the Barents sea // Proceeding of SPIE. Instruments, Methods, and Missions for Astrobiology VI. Bacterial paleontology. 2003. V. 4939. Moscow: PIN RAS, 2003. p. 182-190.

7. Мишустина И.Е., Бардан С.И., Широколобова Т.И. Электронно-микроскопические исследования // Тезис. докл. XX Российской конференции по электронной микроскопии "ЭМ 2004" (Черноголовка, 31 мая - 4 июня 2004 г.). Черноголовка, 2004. с. 186.

8. Широколобова Т.И. Культивирующиеся фильтрованные формы в прибрежной зоне Баренцева моря // Тезис. докл. шестой конференции МГУ "Водные экосистемы и организмы". (Москва, 19-22 мая 2004г.). М.: МГУ, 2004. с. 134-135.

9. Широколобова Т.И. Гетеротрофный бактериопланктон в приливной зоне южного колена Кольского залива // Теория и практика комплексных морских исследований в интересах экономики и безопасности российского Севера: Тез. докл. междунар. науч. - практ. конф. (г. Мурманск, 15 - 17 марта 2005 г.). Апатиты, 2005. с. 163-164

10. Широколобова Т.И. Морские микробиологические исследования в ММБИ // Океанологические и биологические исследования арктических и южных морей России (к 70-летию Мурманского морского биологического института). Апатиты: Изд. КНЦ РАН, 2006. с. 192-203.

11. Мишустина И.Е., Бардан С.И., Широколобова Т.И. Бактериопланктон Кольского залива Баренцева моря (микро- и наноформы) по данным мониторинга 2002-2003гг. //Известия РАН сер. биол., 2006, №2, с.148-155.

12. Широколобова Т.И., Венгер М.П. Структурные характеристики бактериопланктона в береговой зоне Баренцева моря.// Материалы международной конференции "Нефть и газ Арктического шельфа-2006", Мурманск, 15-17 ноября 2006г. Мурманск: ММБИ КНЦ РАН, 2006. с. 308-310.

13. Широколобова Т.И. Изменчивость состава бактериопланктона Кольского залива. // "Естественные и инвазийные процессы формирования биоразнообразия водных и наземных экосистем": материалы международной научной конференции (г. Ростов-на-Дону, 5-8 июня 2007 г.). Ростов-на-Дону: Изд. ЮНЦ РАН, 2007. с. 333-334.

14. Широколобова Т.И., Венгер М.П. Экологический состав и распределение гетеротрофных бактерий в южном колене Кольского залива //Шестая всероссийская школа по морской биологии "Биоразнообразие сообществ морских и пресноводных экосистем России" (1-2 ноября 2007 г., г. Мурманск). Мурманск: Изд. ООО "МПК". с. 186-189.

15. Широколобова Т.И., Венгер М.П. Состав бактериопланктона эстуарной зоны Баренцева моря //Водные экосистемы: трофические уровни и проблемы поддержания биоразнообразия: Материалы Всероссийской конференции с международным участием (г.Вологда, 24-28 ноября, 2008). Вологда, 2008. с. 123-125.

