

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
КОЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
МУРМАНСКИЙ МОРСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ**

*На правах рукописи*

Широколобова  
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

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  
диссертационного совета  
Факс: (8152) 25 39 63

к.г.н. Е.Э. Кирилова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** В прибрежье Кольского полуострова многообразие 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. Исходя из экологического районирования 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 кутовой 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, предвещающих 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 наименования, 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. Мишустиной 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.

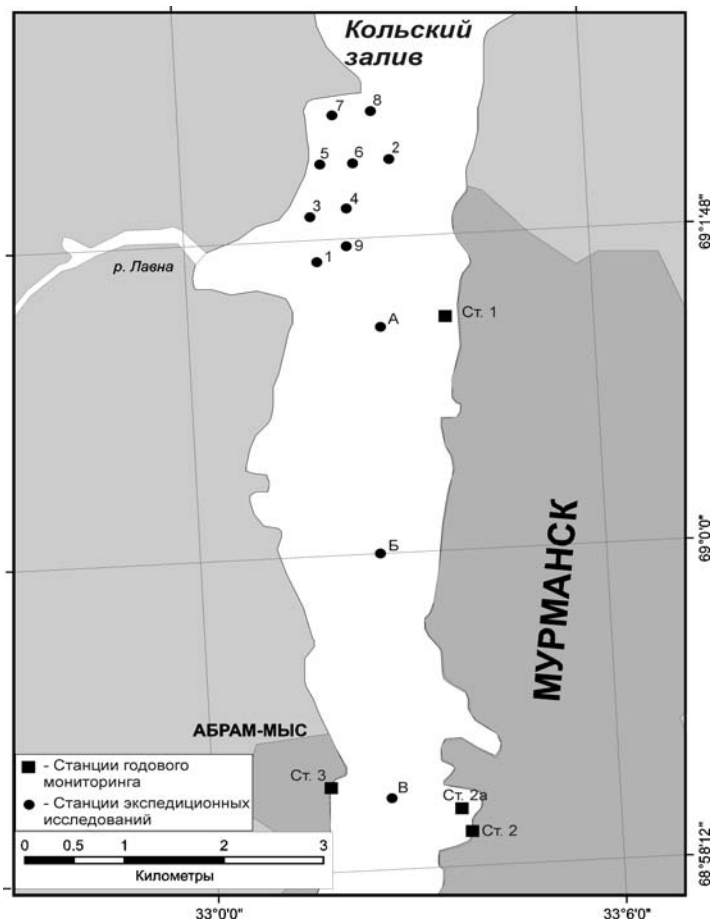


Рис. 1. Карта-схема расположения станций отбора проб в южном колене Кольского залива (ст. 1, 2, 3 - 2002-2003 гг.; ст. 2а; А-Б-В; 1-9 - 2006 г. и 2008-2009 гг.).

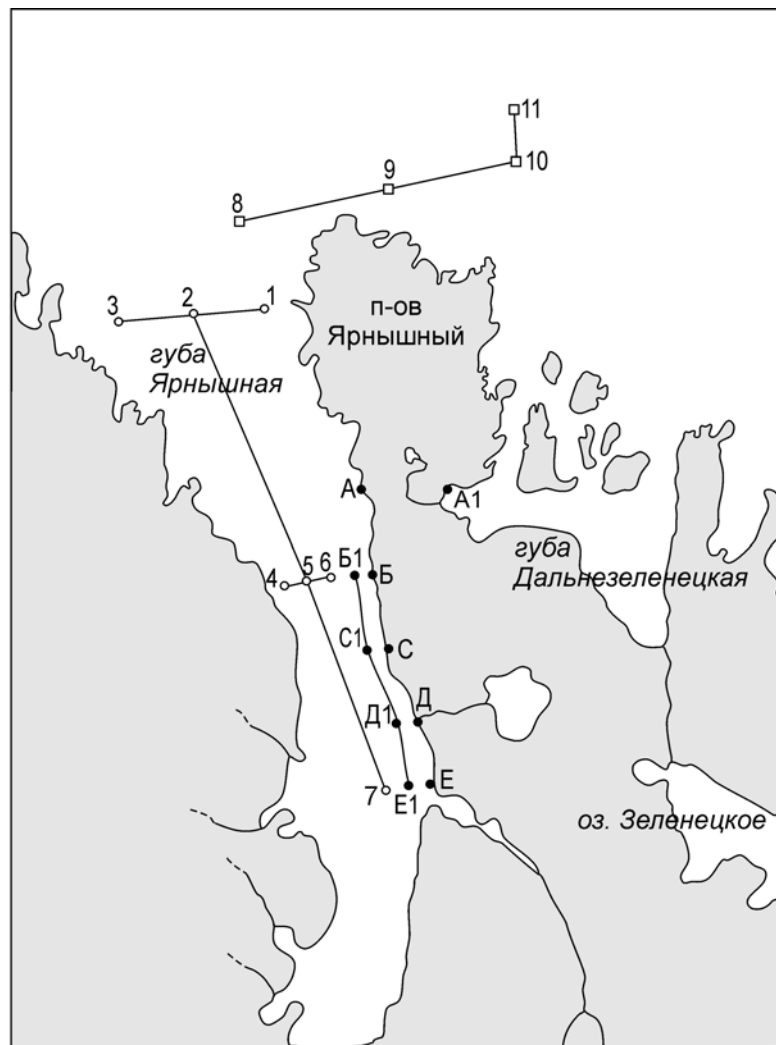


Рис. 2. Карта-схема расположения станций отбора проб в прибрежье Восточного Мурмана: губа Дальнезеленецкая (ст. А1 – 1996 и 1997 гг.) и губа Ярнышная (ст. В – 1996 и 1997 гг.; ст. А-Е; В1-Е1; 1-11 – 2002 г.).

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  $18 \pm 2$  °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  $8 \pm 2$  °С.

В качестве показателя, отражающего изменения условий существования бактерий в морской среде, использовали индекс  $K_{и}$ , 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  $18 \pm 2$  °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	A1, B A1, B A–B–C–D–E; B1–C1–D1–E1; 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 КВ-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 x 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 среднесезонным 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. распреснение 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 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/м<sup>3</sup> (в среднем 0.6 г/м<sup>3</sup>) в поверхностном биотопе и 147-1100 тыс. кл/мл (в среднем 344 тыс. кл/мл) и 0.04-1 г/м<sup>3</sup> (в среднем 194 мг/м<sup>3</sup>) в придонном.

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/м<sup>3</sup>), максимум – к осени (961 мг/м<sup>3</sup>). 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/м<sup>3</sup>), максимум – в весенний (478 тыс. кл/мл, 291.6 мг/м<sup>3</sup>). 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/м<sup>3</sup>) в 1.4 раза превышали летние показатели (147.2 мг/м<sup>3</sup>).

В поверхностном биотопе в зимний период повышенными средними значениями численности бактериопланктона выделялись воды северной (мористой) ст. 1 (1060 тыс. кл/мл, 812 мг/м<sup>3</sup>), пониженными – воды южнее расположенных ст. 2 (654 тыс. кл/мл, 335 мг/м<sup>3</sup>) и ст. 3 (472 тыс. кл/мл, 445 мг/м<sup>3</sup>). 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/м<sup>3</sup>) чем на ст. 2 (2706 тыс., кл/мл и 693 мг/м<sup>3</sup>).

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 м<sup>3</sup>) клеток превышали таковые по побережью (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 13 тыс. КОЕ/мл на ст. 1, 6.0 тыс. и 7.6 тыс. КОЕ/мл – на ст. 2 и 3, 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 - 17.7 тыс. с максимумом 30.8 тыс. КОЕ/мл.

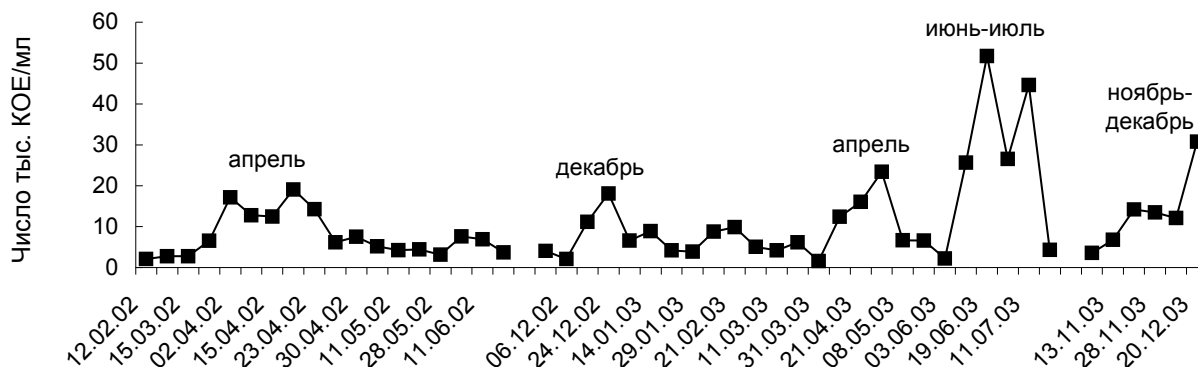


Рис. 3. Сезонная динамика численности умеренно галофильных и галотолерантных бактерий в поверхностном слое южной части Кольского залива (ст. 1) (по данным за февраль 2002 - декабрь 2003 гг.).

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.

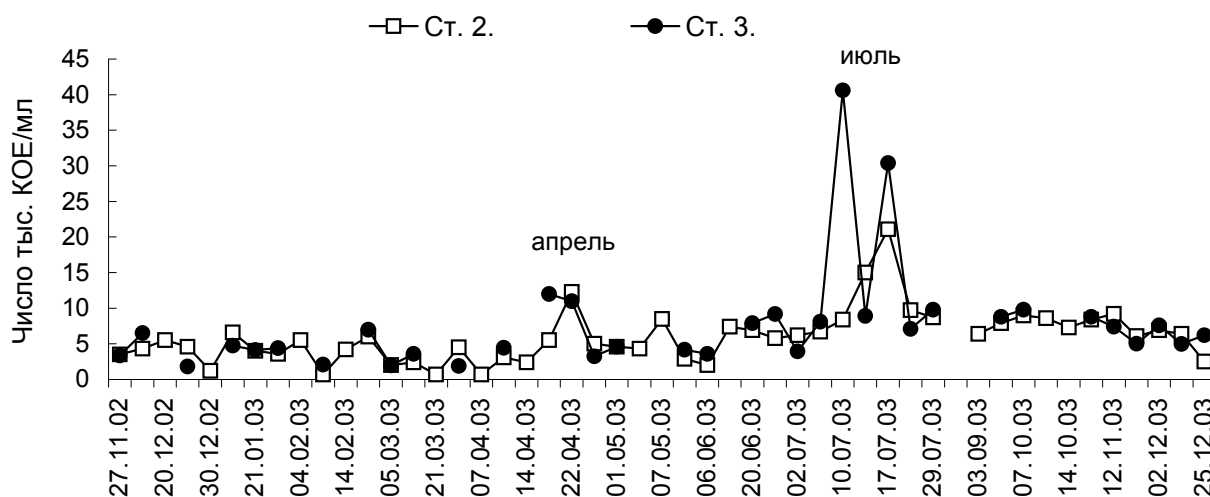


Рис. 4. Сезонная динамика численности умеренно галофильных и галотолерантных бактерий в поверхностном слое южной части Кольского залива (ст. 2 и 3) (данные с ноября 2002 по декабрь 2003 гг.).

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 с диапазоном 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 солености. Исключение составил пик микроорганизмов в мае (4.1 тыс. КОЕ/мл), вызванный максимальным распреснением придонных вод до 24.6 ‰. В отсутствие резких подъемов количественных показателей бактерий, их обилие в придонном слое в среднем составляло 0.6 тыс. КОЕ/мл.

Весной, при подъеме 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 солености 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).

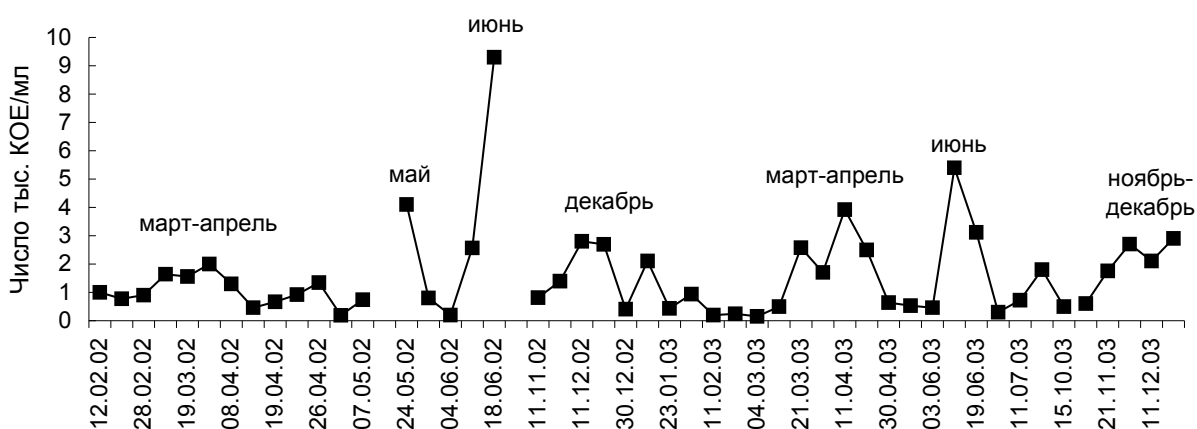


Рис. 5. Сезонная динамика численности галофильных и галотолерантных бактерий в придонном слое южной части Кольского залива (ст. 1) (по данным за февраль 2002 - декабрь 2003 гг.).

Исследования не выявили линейной зависимости численности умеренно галофильных и галоустойчивых бактерий от солености. Видимо ее величина, определяемая процессами простого механического перемешивания при существующих скоростях приливо-отливных течений, не выходила за пределы пороговой толерантности существования этих форм. В тоже время в масштабе сезонных наблюдений из всего комплекса абиотических факторов, влияющих на бактериальное сообщество, ведущими являлись именно соленость и определяющие ее объемы 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 водообменном.

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/м<sup>3</sup>, в придонных морских (32.0 ‰) - 0.6 млн. кл/мл и 0.2 г/м<sup>3</sup>. 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 значительно различались.

Значение отношения количества культивируемых бактерий к общему числу клеток в сообществе (индекс  $K_{и}$ ) достигало 0.004 в поверхностном и 0.002 в придонном слое. Исходя из диапазона значений индекса, приводимого для разных типов вод, полученные нами значения  $K_{и}$  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/м<sup>3</sup>) были сопоставимы с характеристиками прибрежного участка. Их изменения от 1.0 млн. кл/мл и 0.4 г/м<sup>3</sup> до 1.6 млн. кл/мл и 1.5 г/м<sup>3</sup> 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  $K_{и}$  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 °C) на ст. 2а составляла 12.6 ‰, менее теплого придонного (6.6 °C) - 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 °C в поверхностном слое, 33.6-33.9 ‰ и 5.5-5.8 °C в придонном.

На ст. 2а летом численность и биомасса бактерий верхнего биотопа в среднем достигали 2.8 млн./мл и 0.7 г/м<sup>3</sup>, 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 нижнем биотопе показатели обилия (0.9 млн. кл./мл, 0.3 г/м<sup>3</sup>) 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, спириллы 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/м<sup>3</sup>) от центрального вдоль осевого участка залива к западному (2.2 млн. кл./мл и 0.9 г/м<sup>3</sup>) и восточному (2.8 млн. кл./мл и 0.7 г/м<sup>3</sup>) 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/м<sup>3</sup>), увеличивались в направлении восточного берега (до 0.9 млн. кл./мл и 0.3 г/м<sup>3</sup>).

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 понижалась 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 *Eutrepia lanowii* (Трофимова, 2007).

Летние значения индекса  $K_n$  на ст. 2а, по сравнению с весенними, возросли на порядок и свидетельствовали о высоких темпах размножения гетеротрофных бактерий. Показатели  $K_n$  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  $K_n$  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.

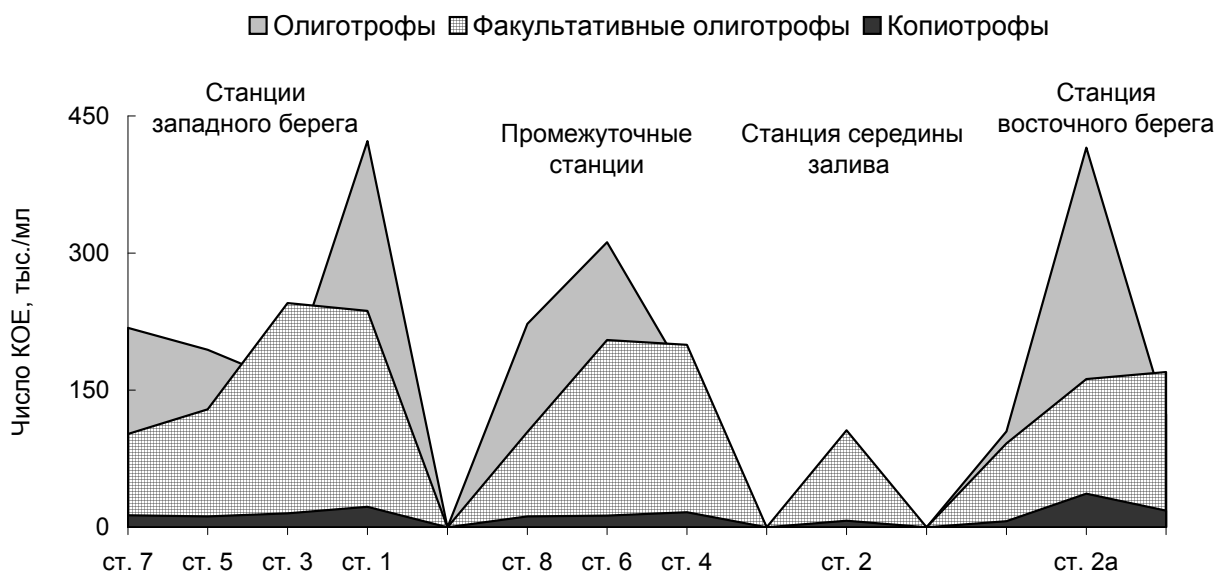


Рис. 6. Пространственное распределение трофических групп бактерий в поверхностном слое южного колена Кольского залива летом 2006г.

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 ‰.

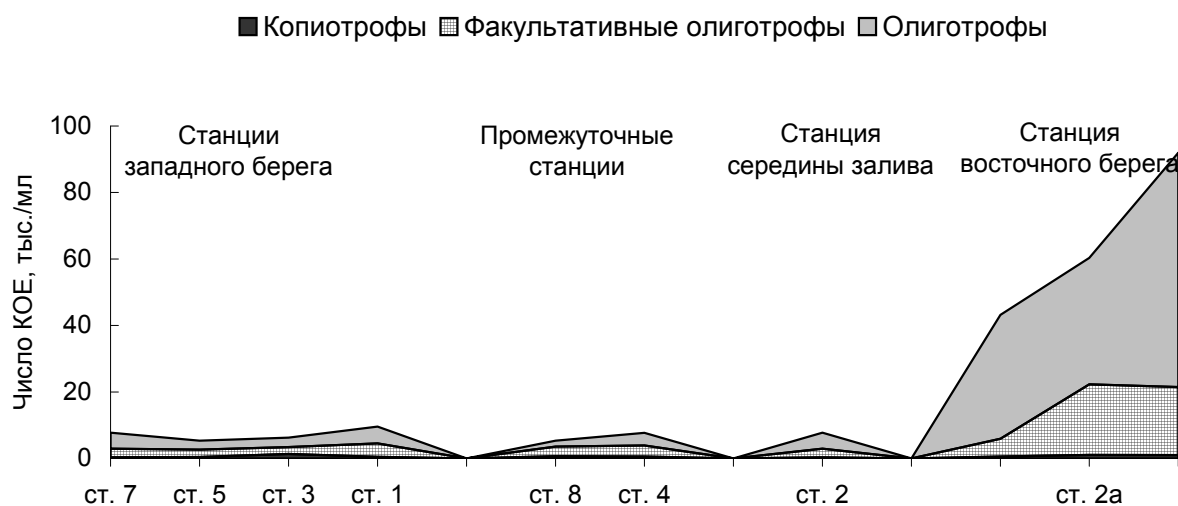


Рис. 7. Пространственное распределение трофических групп бактерий в придонном слое южного колена Кольского залива летом 2006 г.

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/м<sup>3</sup>, в придонном – 0.8 млн. кл/мл и 0.2 г/м<sup>3</sup>. 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  $K_i$  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  $K_i$  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  $\nu \approx 13$ ,  $t^{\text{эмп}}(13; 0.05) = 2.786 > t^{\text{табл}}(13; 0.05) = 2.160$ , 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 мм) 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 мм. 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 10 (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. 10, 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.10, а-в) наблюдали кокковидные и овальной формы клетки, часто с дефектной клеточной стенкой, а также крупные шарообразные формы - сферопласты и клетки, окруженные пилями или ворсистыми выростами. На рисунке 10 (е) рядом с крупной клеткой из этой же колонии расположилась цепочка небольших клеток.

У колонии с красновато-рыжим пигментом, выделенной из фильтрата придонной воды, также наблюдался полиморфизм клеток (рис. 10, ж). Он проявлялся в их неравноценном делении, неправильной форме клеток, наличии наряду с крупными клетками палочковидной формы округлых клеток с ворсистой поверхностью.

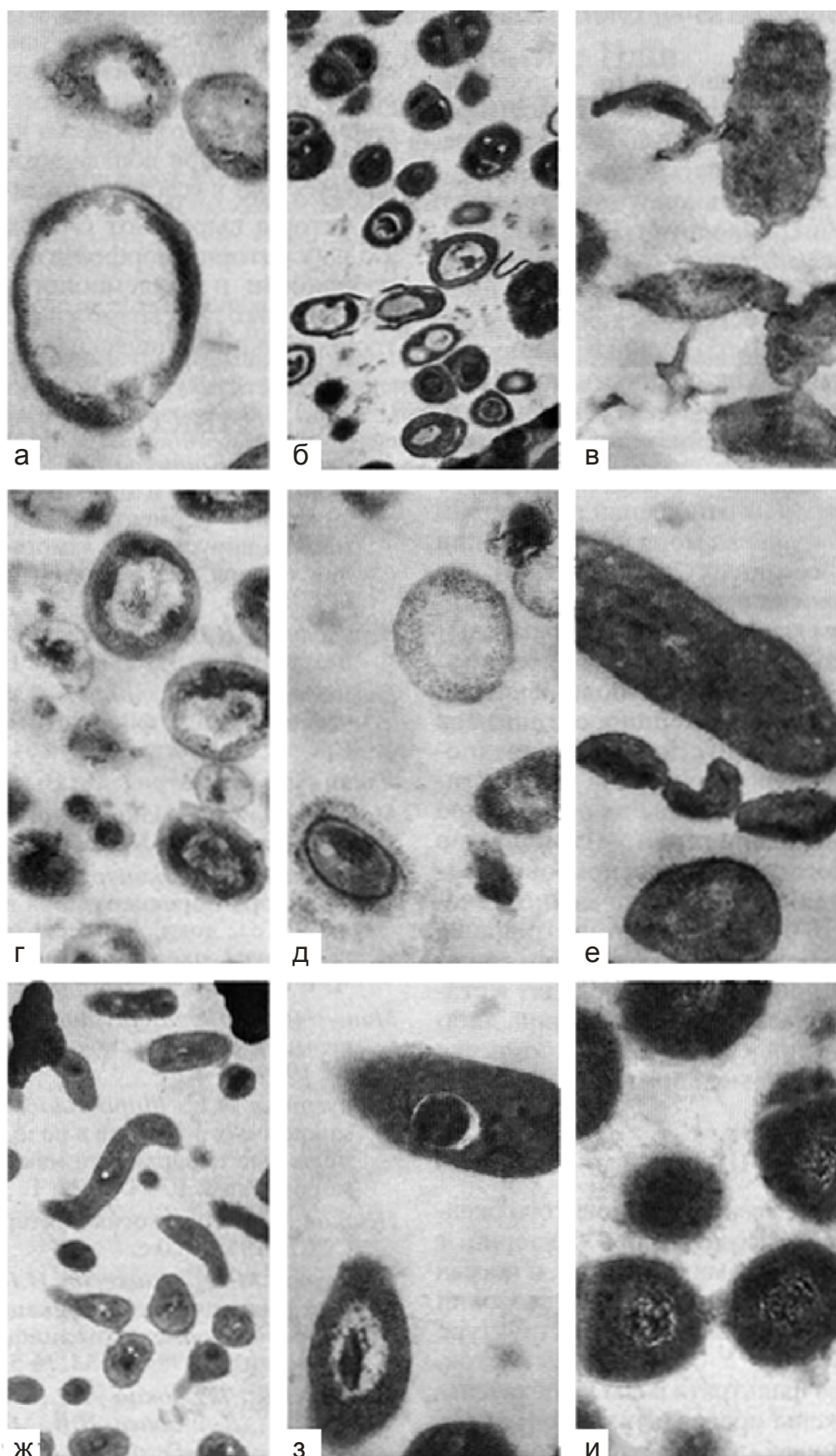


Рис. 8. Электронно-микроскопические фото бактериальных клеток колоний, выросших из фильтрата воды со станции №1: а–д - поверхностный слой; е - придонный слой, декабрь 2002 г.; ж, з, и - поверхностный слой, апрель 2003 г. Ув. (А, в–д) × 50000; (в, ж) × 14000; (е) × 33000; (з, и) × 44000

Несколько иную картину дали электронно-микроскопические снимки весенних проб (рис. 10, 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 пики. 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 нефилтрованных 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 ( $C^{14}$ ) (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 микровибрионов (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 экзометаболитов, 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 копитрофных 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 2001 г.). 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 2002 г.). 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 2002 г.). 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 2004 г.) 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 2002-2003 гг. // 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 2006 г. 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.