



УДК: 574.635 (262.5)

НАКОПИЧЕННЯ ГЕТЕРОТРОФНИХ БАКТЕРІЙ МІДІЯМИ ТА МІТІЛЯСТЕРАМИ У ПРИБЕРЕЖНИХ АКВАТОРІЯХ ПІВДЕННО-ЗАХІДНОЇ ЧАСТИНИ ЧОРНОГО МОРЯ

І. А. Говорін, Е. І. Шаццлло, Л. М. Нідзвецька

*Інститут морської біології НАН України, вул. Пушкінська, 37, Одеса 65011, Україна
e-mail: ia-govorin@ukr.net*

Уперше для південно-західної частини Чорного моря було зроблено порівняльний аналіз накопичення гетеротрофних бактерій алохтонного походження мідіями *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) та мітілястерами *Mytilaster lineatus* (Gmelin, 1798) із обростання бетонних траверсів у двох прибережних акваторіях, які розрізняють за ступенем антропогенного навантаження й ізольованості від відкритого моря берегозахисними гідротехнічними спорудами (Одеська затока, район мису Ланжерон). З'ясовано, що бактеріальна контамінація м'якого тіла обох молюсків у природних умовах може коливатися у досить широких межах: від $1,5 \times 10^3$ до $2,2 \times 10^5$ колонієутворюючих одиниць (КУО) в 1 г м'якого тіла молюска для мідій і від $4,5 \times 10^3$ до $2,5 \times 10^5$ КУО/г для мітілястера. Кількість бактеріальних клітин залежить, насамперед, від рівня їх концентрації в морській воді, що контактує з молюсками, а також від її солоності.

Ключові слова: мідія, мітілястер, перифітонні поселення, бактеріологічні характеристики молюсків, Одеська затока, північно-західна частина Чорного моря.

ВСТУП

Двостулкові молюски відіграють важливу роль у природних процесах самоочищення водного середовища (у тому числі від бактеріального забруднення алохтонною мікрофлорою), пов'язаного з антропогенним впливом на морські екосистеми [2, 3, 11]. У прибережних акваторіях північно-західної частини Чорного моря домінуючими видами молюсків-фільтраторів у біоценозах обростання різного типу гідротехнічних берегозахисних споруд є мідія *Mytilus galloprovincialis* Lam. і мітілястер *Mytilaster lineatus* Gmel. [6, 7]. Утім, якщо роль мідійних поселень у санітарно-мікробіологічній меліорації морського середовища є практично визначеною [1, 2, 5], то вклад мітілястера у процеси елімінації із морської води бактерій алохтонного походження та рівень їх накопичення в цих молюсках залишаються недостатньо вивченими. Крім того, безсумнівно, науковий інтерес становить не лише кількісне

визначення накопичення *M. lineatus* алохтонних мікроорганізмів у процесі життєдіяльності, але і порівняння його рівня із акумуляційним потенціалом більших за розміром мідій. Це може в подальшому слугувати для практичних оцінок ролі мітілястерів у сумісному із мідіями біомеліоративному функціонуванні поселень цих молюсків на гідротехнічних спорудах у прибережних морських акваторіях.

Мета цієї роботи – визначити рівень накопичення гетеротрофних бактерій у тілі мідій *M. galloprovincialis* і мітілястерів *M. lineatus* із обростання бетонних траверсів у природних умовах північно-західної частини Чорного моря, а також порівняти бактеріальну контамінацію цих молюсків у акваторіях, що різняться за ступенем ізольованості від відкритого моря берегозахисними гідротехнічними спорудами та ступенем антропогенного навантаження (Одеська затока, район мису Ланжерон).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили у двох прибережних акваторіях Одеської затоки біля мису Ланжерон (координати: 46°28.511' пн. ш., 30°45.959' сх. д. – 46°28.091' пн. ш., 30°45.828' сх. д.) (рис. 1). Акваторії лежали на відстані близько 1,0 км одна від одної та різнилися як за ступенем їх ізольованості від відкритого моря бетонними берегозахисними спорудами, так і за рівнем антропогенного навантаження на них:

- А) повністю відкрита прибережна акваторія, що має вільний водообмін із морським простором, з глибинами 4,0–5,0 м, з піщано-кам'янистим дном і забетонованою береговою смугою, практично не використовується купальниками;
- Б) частково ізольована від відкритого моря акваторія міського пляжу із заглибленим хвилеломом і двома надводними бетонними траверсами по краях, глибиною 2,0–2,5 м, з піщаним дном. Улітку цю акваторію активно використовують купальники, і коли вода тут прогрівається до 24–25 °С, їх кількість на 12–13 годину може сягати одразу кількох десятків.



Рис. 1. Район відбору проб біля мису Ланжерон (Одеська затока, пн.-зах. частина Чорного моря), де проводили дослідження: А – відкрита акваторія із вільним водообміном з морським простором; Б – напівзакрита зануреним хвилеломом акваторія пляжу з уповільненим водообміном. Білими мітками відмічено траверси, з яких відбирали проби морської води і молюсків

Fig. 1. Marine coastal area nearby the Lanzheron Cape (Odessa Gulf, Northwestern Black Sea, Ukraine) where are making investigations: А – completely open area with free water change; Б – semi-enclosed beach area with breakwater. The places of sampling of the sea water and mollusks on the concrete traverses are marked with white dots

Відбір проб морської води, мідій і мітілястерів проводили щомісяця, з травня по жовтень 2013 р. та з березня по жовтень 2014 р. Молюсків збирали з підводної поверхні бетонних траверсів на глибині 1,0–1,5 м, водночас стерильним батометром брали проби води на тому ж горизонті, на відстані 0,5 м від поверхні біообросання траверсу. З кожної проби молюсків для подальшого мікробіологічного аналізу відбирали по 10 різних за розміром особин мідій (довжина стулок у діапазоні від 11 до 50 мм) і мітілястерів (довжина стулок 10–15 мм).

У морській воді та молюсках з'ясовували загальну кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів (МАФАНМ), оскільки прийнято вважати, що чим вище МАФАНМ, або загальне мікробне обсіменіння об'єкта зовнішнього середовища, тим вища ймовірність наявності в них патогенних мікробів [8, 10]. Для цього, згідно з наявними мікробіологічними методиками, проводили посів досліджуваного матеріалу (1 см³ води або розчину гомогенату м'якого тіла молюска) на чашки Петрі з м'ясопептонним агаром (МПА), з подальшим їх термостатуванням при 37 °С протягом 24–48 годин [8, 9]. Після культивування підраховували чисельність колоній, що виростили на чашці, а ступінь контамінації виражали кількістю колонієутворюючих одиниць (КУО) в 1 см³ води (C_w) або в 1 г м'яса мідій (C_m) і мітілястерів (C_{mt}) за формулою:

$$C = a \times 10^n,$$

де a – кількість колоній, що виростили на чашці; n – ступінь розведення морської води або гомогенату тіла молюсків.

Загалом за період досліджень було здійснено мікробіологічний аналіз 22 проб води та по 22 проби мідій і мітілястерів.

Водночас із відбором проб в обох акваторіях визначали температуру морської води (T , °С) та її солоність (S , ‰) на тому ж горизонті, де були взяті молюски.

Отримані результати обробляли методом статистичного аналізу за допомогою стандартних комп'ютерних програм Statgraph Plus 5.0 та Microsoft Excel 11 (2003). Коли виявляли статистично вагомі залежності між контрольованими показниками ($p < 0,05$), то складали математичні рівняння цих залежностей і здійснювали їх графічне відтворення.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Гідрологічні спостереження за температурою і солоністю морської води в районі мису Ланжерон у 2013–2014 рр. довели, що в обох досліджуваних акваторіях ці показники майже не відрізнялися, що створювало практично однакові умови для життєдіяльності існуючих там перифітонних поселень молюсків (табл. 1).

Проведені мікробіологічні дослідження продемонстрували, що чисельність гетеротрофних бактерій у морській воді коливалася у досить широких межах, від $0,01 \times 10^4$ до $0,35 \times 10^4$ КУО/см³ у відкритій акваторії з мінімальним антропогенним навантаженням (А), та від $0,01 \times 10^4$ до $0,34 \times 10^5$ КУО/см³ в акваторії пляжу (Б). Середні значення цього показника становили, відповідно, $(0,12 \pm 0,04) \times 10^4$ та $(0,48 \pm 0,30) \times 10^4$ КУО/см³ (табл. 2). Втім, незважаючи на деяку розбіжність у рівні бактеріальної контамінації водного середовища в досліджуваних акваторіях, статистичний аналіз не підтвердив статистично значимої різниці між ними, як у цілому для всього періоду досліджень, так і за окремими його сезонами ($p > 0,05$).

Таблиця 1. Показники температури та солоності морської води у двох досліджуваних акваторіях одеського узбережжя біля мису Ланжерон, 2013–2014 рр.

Table 1. Parameters of temperature and salinity of the seawater in two beach areas of Odessa coast near Lanzheron Cape in 2013–2014

Рік	Період досліджень	Акваторія	T, min–max, °C	S, min–max, ‰
2013	травень–жовтень	А	12,6–24,0 (19,7±2,7)	8,10–16,54 (13,13±1,79)
		Б	13,2–24,2 (20,2±2,6)	8,12–16,55 (12,75±2,47)
2014	березень–жовтень	А	4,6–25,0 (16,3±2,8)	14,55–17,24 (15,21±0,52)
		Б	4,8–24,0 (16,2±2,5)	14,42–17,31 (15,23±0,54)
У середньому для 2013–2014		А	(17,6±2,0)	(14,29±0,86)
		Б	(17,7±1,8)	(14,30±0,98)

Примітка: (тут і в табл. 2): А – повністю відкрита акваторія, практично не використовується купальниками; Б – акваторія міського пляжу, відділена від моря заглибленим хвилеломом, досить активно використовується купальниками у літній сезон; в дужках – середні значення показників і їх стандартна похибка.

Comment: (here and on the table 2): A – completely open area, practically not using by swimmers; Б – semi-closed beach area with breakwater, actively used for bathed in the summer season. In brackets – mean values ± their standard errors.

Таблиця 2. Кількість колонісуючих одиниць (КУО) в 1 см³ води (C_w) або в 1 г м'яса мідій (C_m) та мітілястерів (C_{mt}) у двох досліджуваних акваторіях одеського узбережжя біля мису Ланжерон, 2013–2014 рр.

Table 2. The number of colony-forming units (CFU) in the seawater (C_w , CFU/cm³), in the soft body of mussels (C_m , CFU/g) and mytilasters (C_{mt} , CFU/g) in two beach areas of Odessa coast near Lanzheron Cape in 2013–2014

Рік	Акваторія	N	КУО, n×10 ⁴		
			Вода, C_w	Мідії, C_m	Мітілястер, C_{mt}
2013	А	4	0,01–0,26 (0,14±0,07)	0,70–7,50 (2,85±1,57)	1,10–25,00 (7,29±5,91)
	Б	4	0,01–3,40 (0,96±0,82)	0,82–22,00 (9,21±5,05)	0,70–3,64 (2,16±0,82)
2014	А	7	0,01–0,35 (0,10±0,05)	0,15–17,50 (3,82±2,40)	1,11–18,60 (11,28±5,58)
	Б	7	0,02–0,62 (0,21±0,09)	0,47–17,00 (5,06±2,51)	0,45–23,50 (6,29±3,09)
2013–2014	А	11	(0,12±0,04)	(3,47±1,58)	(4,57±1,87)
	Б	11	(0,48±0,30)	(6,57±2,37)	(5,79±2,03)

Примітка: N – кількість проб; КУО – мінімальне та максимальне значення, в дужках – середні значення показників і їх стандартна похибка.

Comment: N – number of samples; КУО (CFU) – min.–max. values, in brackets – mean values ± their standard errors.

Кількість гетеротрофних бактерій у м'якому тілі молюсків (КУО, г) також коливалася у широких межах. Для мідій в обох акваторіях від $1,5 \times 10^3$ до $2,2 \times 10^5$, у середньому $(5,02 \pm 1,43) \times 10^4$ КУО/г, та для мітілястерів – від $4,5 \times 10^3$ до $2,5 \times 10^5$, у середньому $(6,15 \pm 1,75) \times 10^4$ КУО/г. Рівень накопичення бактерій у тілі обох молюсків був трохи вищий в акваторії пляжу (Б), ніж у відкритій акваторії з мінімальним антропогенним навантаженням (А): для мідій, відповідно, $(6,57 \pm 2,37) \times 10^4$ та $(3,47 \pm 1,58) \times 10^4$ КУО/г, для мітілястерів – $(5,79 \pm 2,03) \times 10^4$ та $(4,57 \pm 1,87) \times 10^4$ КУО/г (див. табл. 2). Однак ця розбіжність у середніх значеннях контамінації молюсків у досліджуваних акваторіях також статистично не підтвердилася. Це можна пояснити тим, що немає статистично значимої різниці у рівні бактеріальної контамінації морської води в акваторіях.

Проведене порівняння залежності рівня концентрації бактеріальних клітин у тілі мідій і мітілястерів від їх чисельності в контактуючій з ними морській воді, продемонструвало практичну збіжність інтенсивності накопичення бактерій цими двома молюсками (рис. 2).

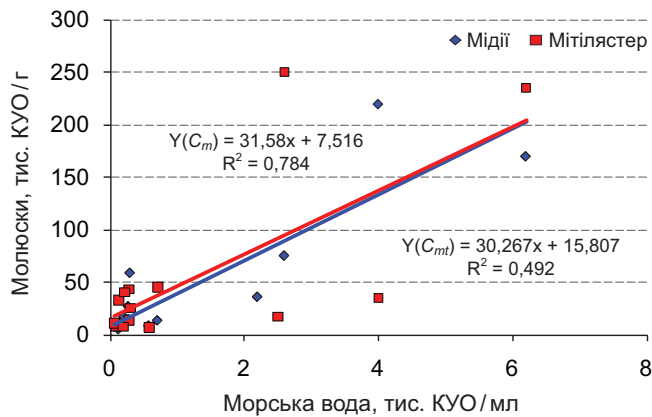


Рис. 2. Залежність рівня бактеріальної контамінації мідій *Mytilus galloprovincialis* (C_m , —◇—) та мітілястерів *Mytilaster lineatus* (C_{mt} , —□—) від чисельності гетеротрофних бактерій у морській воді в районі мису Ланжерон, одеське узбережжя Чорного моря, березень–жовтень 2014 р.

Fig. 2. The levels of bacterial contamination of mussels *Mytilus galloprovincialis* (C_m , —◇—) and mytilasters *Mytilaster lineatus* (C_{mt} , —□—), and its dependence from the number of heterotrophic bacteria in sea-water near Cape Lanzheron, Odessa coast, north-western Black Sea, March–October 2014

Статистичний аналіз впливу всіх контрольованих нами факторів довів, що рівень бактеріальної контамінації як мідій (C_m), так і мітілястерів (C_{mt}) залежить від чисельності гетеротрофних бактерій у контактуючій з молюсками морській воді (C_w), а також від її солоності (S). Цю залежність можна виразити так:

– для мідій: $\log C_m = 16,609 + 0,201 \times \log C_w - 3,040 \times \log S$
 ($R^2 = 61,60 \%$, $SE = 0,783$, $p = 0,0034$);

– для мітілястерів: $\log C_{mt} = 18,959 - 0,153 \times \log C_w - 2,970 \times \log S$
 ($R^2 = 39,33 \%$, $SE = 0,845$, $p = 0,042$),

де R^2 – коефіцієнт детермінації рівняння, %; SE – оцінка стандартної похибки; p – коефіцієнт значимості цієї залежності.

Багатофакторний статистичний аналіз (Multifactor ANOVA) підтвердив залежність рівня накопичення бактеріальних клітин обома молюсками від сезону (як одного з керуючих факторів), але тільки за оцінки цього фактора разом із температурою та солоністю у кожній з акваторій як коваріанс. Утім, порівняно з впливом солоності морської води, коливання її температури у межах від $16,2 \pm 2,5$ до $20,2 \pm 2,6$ °C не мали статистично значимого впливу на рівень бактеріальної контамінації як мідій, так і мітілястерів ($p > 0,05$).

ВИСНОВКИ

1. Бактеріальна контамінація м'якого тіла як мідій *Mytilus galloprovincialis*, так і мітілястерів *Mytilaster lineatus* у перифітонних поселеннях молюсків в умовах Одеської затоки може коливатися у досить широких межах. Так, за період весна–осінь 2013–2014 рр. кількість колонієутворюючих одиниць в 1 г м'якого тіла молюска становила від $1,5 \times 10^3$ до $2,2 \times 10^5$ для мідії, в середньому $(5,02 \pm 1,43) \times 10^4$ КУО/г, та від $4,5 \times 10^3$ до $2,5 \times 10^5$ для мітілястера, в середньому $(6,15 \pm 1,75) \times 10^4$ КУО/г.
2. Інтенсивність накопичення бактеріальних клітин молюсками була майже однакова як для мідій, так і для мітілястерів, і залежала, насамперед, від рівня концентрації бактерій у морській воді, що контактує з молюсками, а також від її солоності в акваторії.
3. Перифітонні поселення мідій і мітілястерів на гідротехнічних берегозахисних спорудах (траверси, хвилеломи тощо) можуть значною мірою впливати на формування бактеріальних характеристик морського середовища у прибережних акваторіях, відіграючи роль біофільтра, що здатен досить активно акумулювати алохтонну мікрофлору, пов'язану з антропогенним чинником.

1. Cavallo R.A., Acquaviva M.I., Stabili L. Culturable heterotrophic bacteria in seawater and *Mytilus galloprovincialis* from Mediterranean area (Northern Ionian Sea, Italy). **Environ Monitoring Assess.** 2009; 149 (1–4): 465–475.
2. Charles F., Gremare A., Amouroux J.-M., Cahet G. Filtration of the enteric bacteria *Escherichia coli* by two filter-feeding bivalves, *Venus verrucosa* and *Mytilus galloprovincialis*. **Marine Biology**, 1992; 113 (1): 117–124.
3. Govorin I.A. Role of Bivalves in the Depuration of Seawaters Contaminated by Bacteria. **Marine Biology**, 2000; 26 (2): 77–85. (In Russian).
4. Govorin I.A. The Role of mussels in sanitary-bacteriological melioration of sea waters. In: Zaytsev Y.P., Aleksandrov B.G., Minicheva G.G. (Ed.) **North-western part of Black Sea: biology and ecology**. Kiev: Naukova Dumka, 2006: 538–543. (In Russian).
5. Govorin I.A. The Role of Mussels from Biofouling of Coast-Protecting Hydraulic Facilities in Forming of Microbiological Characteristics of the Marine Environment in the Beach Water Areas. **Hydrobiological Journal**, 2006; 42 (5): 39–47. (In Russian).
6. Govorin I.A., Adobovskiy V.V., Shatsillo E.I. Fouling of Hydroengineering Structures with Mussels as a Natural Biofilter Component in the Coastal Zone of the Black Sea. **Hydrobiological Journal**, 2004; 40 (5): 62–69. (Publisher: John Willey&Sons LTD, USA; ISSN – 0018-8166).
7. Govorin I.A., Shatsillo E.I. Formation of the Filtering Potential of the Mussel and Mytilaster Settlements within Anthropogenically Transformed Coastal Zone of the Black Sea. **Hydrobiological Journal**, 2010; 46 (2): 3–12. (In Russian).

8. Kaprelyants L.V., Egorova A.V., Kananikhina O.M., Shpirko T.V., Trufkati L.V. **Systematic guidance for laboratory works for “Microbiology of aquatic organisms”**. Odessa: ON-AKHT, 2010. 63 p. (In Ukrainian).
9. Peretrukhina A.T., Peretrukhina I.V. **Microbiology of raw material and foods water origin**. St.-Petersburg: GIOR, 2005. 320 p. (In Russian).
10. Rubtsova S.I. Heterotrophic bacteria as indicators of pollution and self-purification of the marine environment. **Ecologia Morya**, 2002; vol. 62: 81–85. (In Russian).
11. Younger A.D., Reese A.B. Comparison of *Escherichia coli* levels between bivalve mollusk species across harvesting sites in England and Wales. **Journal of Shellfish Research**, 2013; 32 (2): 527–532.

ACCUMULATION OF HETEROTROPHIC BACTERIA BY MUSSELS AND MYTILASTERS IN NORTH-WESTERN BLACK SEA COASTAL AREAS

I. A. Govorin, E. I. Shatsillo, L. M. Nidzvetskaya

Institute of Marine Biology, NAS of Ukraine
37, Pushkinska St., Odessa 65011, Ukraine
e-mail: ia-govorin@ukr.net

The results of studying accumulation of heterotrophic bacteria from sea water by mussels *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) and mytilasters *Mytilaster lineatus* (Gmelin, 1798) from biofouling on concrete traverses in two Odessa Coast beach areas (Lanzheron Cape, North-western part of Black Sea, Ukraine), are presented. It has been shown, that bacterial contamination of the both mollusks in the natural conditions may vary in wide ranges: from 1.5×10^3 до 2.2×10^5 colony formed units (CFU) in 1 g of animal soft body for mussels and from 4.5×10^3 to 2.5×10^5 CFU/g for mytilasters. The means for period spring-autumn 2013–2014 was $(5.02 \pm 1.43) \times 10^4$ and $(6.15 \pm 1.75) \times 10^4$ CFU/g, correspondingly. The accumulation of bacterial cells by mollusks in marine areas was primarily dependent on the level of bacterial contamination in seawater, as well as its salinity.

Keywords: mussel, mytilaster, periphyton settlements, bacteriological characteristics of mollusks, Odessa gulf, North-western part of Black Sea, Ukraine.

НАКОПЛЕНИЕ ГЕТЕРОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ МИДИЯМИ И МИТИЛЯСТЕРАМИ В ПРИБЕРЕЖНЫХ АКВАТОРИЯХ СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ЧЕРНОГО МОРЯ

И. А. Говорин, Е. И. Шацилло, Л. М. Нидзвецкая

Институт морской биологии НАН Украины
ул. Пушкинская, 37, Одесса 65011, Украина
e-mail: ia-govorin@ukr.net

Впервые для северо-западной части Черного моря проведен сравнительный анализ интенсивности накопления гетеротрофных бактерий аллохтонного происхождения мидиями *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) и митилястера-

ми *Mytilaster lineatus* (Gmelin, 1798) из обрастания бетонных траверсов в двух прибрежных акваториях, различающихся по степени антропогенной нагрузки и изолированности от открытого моря гидротехническими берегозащитными сооружениями (Одесский залив, район мыса Ланжерон). Показано, что бактериальная контаминация мягкого тела обоих моллюсков в природных условиях может изменяться в широких пределах: от $1,5 \times 10^3$ до $2,2 \times 10^5$ колоний-образующих единиц (КОЕ)/г для мидий и от $4,5 \times 10^3$ до $2,5 \times 10^5$ КОЕ/г для митилястеров. Средние значения для периода весна–осень 2013–2014 гг. составляли, соответственно, $(5,02 \pm 1,43) \times 10^4$ и $(6,15 \pm 1,75) \times 10^4$ КОЕ/г. Интенсивность аккумуляции мидиями и митилястерами бактериальных клеток в первую очередь зависела от уровня их концентрации в контактирующей с моллюсками морской воде, а также от её солёности.

Ключевые слова: мидия, митилястер, перифитонные поселения, бактериологические характеристики моллюсков, Одесский залив, северо-западная часть Черного моря.

Одержано: 02.02.2015