



УДК 579:628.357

**О. Г. Миронов**, докт. биол. наук, зав. отд., **Ю. В. Дорошенко**, аспирант

Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского Национальной академии наук Украины,  
Севастополь, Украина

### НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИЕ ДРОЖЖИ ПЕРИФИТОНА СИСТЕМ ГИДРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ МОРСКИХ ВОД

Впервые выделены дрожжи из перифитона систем гидробиологической очистки морской воды. Преобладали крупные, тёмные, овальные, с односторонним почкованием клетки. Все выделенные культуры дрожжей могли использовать нефть или нефтепродукты в качестве единственного источника углерода и энергии. Высокие концентрации нефтяных углеводородов оказывают негативное влияние на рост дрожжей.

**Ключевые слова:** дрожжи, нефтяное загрязнение, система гидробиологической очистки, Чёрное море

Дрожжи широко распространены в природе, составляя значительную часть в биомассе микроорганизмов и являясь постоянными обитателями водной толщи, а также грунтов пресных и морских водоёмов [4, 6, 18, 19]. Как пишет М. И. Новожилова [18], впервые на широкое распространение дрожжей в поверхностных водах Атлантического океана указал Б. Фишер в 1894 г., а спустя 20 лет в 1914 г. наш соотечественник Б. Л. Исаченко выделил в Баренцевом море чёрные и розовые дрожжи. По [22], дрожжи вырастали постоянно на агаровых пластинах в образцах морской воды, взятой вблизи берега и на глубинах в Тихом океане. Они обнаруживались в Атлантическом океане, в частности, по разрезу Гренландия – Антарктида [8], и выделялись с глубин 4800 м [7]. Дрожжевые организмы, подобно многим морским микроорганизмам, распределены в морях неравномерно и микроразнообразно. По [17], частота встречаемости дрожжей выше в прибрежных районах моря, по сравнению с его открытой частью: 58 и 38 % соответственно от числа отобранных проб. В открытом океане, как правило, обнаруживаются лишь единичные

клетки дрожжей на 10 л воды, у незагрязнённых берегов их обычно менее 100 кл/л. В то же время в морских и океанических водах, содержащих цветущий фитопланктон, плотность дрожжей достигает более 1000 кл/л [19]. В загрязнённой морской воде количество дрожжей может превышать 1000 кл/л, а в местах сброса сточных вод увеличивается на несколько порядков.

По материалам 50 – 70-х годов XX века, Чёрное море отличается значительным разнообразием дрожжей, которые выделялись от поверхности до глубин 2000 м. При этом частота встречаемости дрожжей в кислородной зоне Чёрного моря составляет 47 %, а в бескислородной – 30 % [7, 18].

Дрожжи обладают высокой биохимической активностью и могут окислять различные органические вещества. Большой интерес для изучения процессов самоочищения в море представляет способность дрожжей использовать нефтяные углеводороды в качестве единственного источника углерода и энергии [18, 20, 21]. По [4], способность усваивать углеводороды нефти является генетическим призна-

ком дрожжей и не зависит от мест их выделения.

Детальное изучение нефтеокисляющей микрофлоры Чёрного моря проводится в отделе морской санитарной гидробиологии Ин-БЮМ на протяжении нескольких десятилетий [10, 13, 14]. Однако эти исследования в подавляющем большинстве случаев охватывают бактериальное население морской воды и донных осадков. Значительно меньше внимания уделялось грибам и дрожжам. Сведения о морских дрожжах в перифитоне практически отсутствуют [1]. В то же время изучение дрожжей на этом субстрате представляет значительный интерес, поскольку микрофлора перифитона играет основную роль в трансформации загрязняющих веществ.

Цель настоящей работы: выделить дрожжи из перифитона систем гидробиологической очистки и изучить их способность расти на нефти и нефтепродуктах.

**Материал и методы.** В конце 80-х – начале 90-х годов XX столетия в акватории Нефтегавани Севастопольской бухты (Чёрное море) были развёрнуты два варианта систем гидробиологической очистки [3, 13].

Пробы обрастаний с гидробиологических систем отбирались ежемесячно с января 2005 по февраль 2006 г. Материал помещался в полиэтиленовые вёдра с морской водой, предварительно обработанные спиртом. После доставки в лабораторию выделение дрожжей из перифитона выполнялось так же, как и бактерий [2].

Накопительную культуру получали по [5] на солодово-дрожжевом бульоне (СДБ). Для подавления роста бактерий в каждую пробирку добавляли стрептомицин (100 ед./мл) и молочную кислоту (3 – 4 мл/л). Для подавления роста актиномицетов использовали бенгальский розовый (0.003 %) [5]. Однако полностью подавить рост микромицетов нам не удалось, и в ряде случаев они препятствовали росту дрожжей, или вырастали совместно с ними.

После инкубации в течение 7 – 10 дней при температуре 22 – 23°C в некоторых пробирках визуально наблюдали показатели роста накопительной культуры: помутнение, осадок, дрожжевую плёнку на поверхности среды. Затем из накопительной культуры высеивали материал на дрожжевую агаризованную среду (солодово-дрожжевой агар) и оставляли в термостате при температуре 27 – 28°C. Спустя 3 – 7 дней отсеивали характерные для дрожжей колонии в пробирки со скошенным агаром того же состава. После проверки культуры на чистоту, они переносились на среду СДБ, на которой и хранились. Все дальнейшие эксперименты проводились с трёхсуточной культурой дрожжей. Исходя из специфики исследований, о чём сказано ранее [12], идентификация культур не проводилась, а им присваивали порядковый номер. Способность и интенсивность роста дрожжевых культур на нефти и нефтепродуктах определяли по [11, 16]. В качестве источника нефтяных углеводородов использовали дизельное топливо, флотский мазут и сырую нефть. Статистическая обработка результатов проводилась по [9].

**Результаты и обсуждение.** Всего выделено 67 культур дрожжей. При микроскопии исследуемых клеток обнаружены некоторые отличия в размерах, цвете, типе почкования, форме. Наиболее распространённые формы приведены на рис. 1.

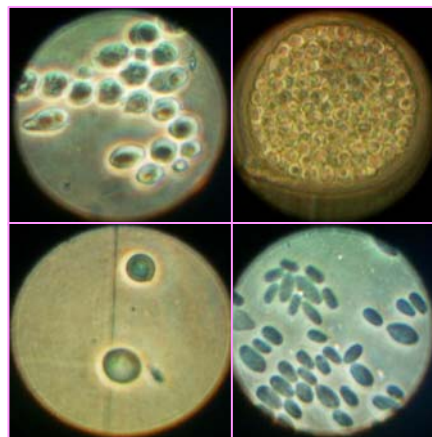


Рис. 1 Наиболее распространённые формы дрожжей  
Fig. 1 The most prevailing forms of yeasts

Следует отметить, что среди тёмных дрожжей преобладали коричневые оттенки, среди светлых большинство составляли культуры с зелёным отливом, в которых хорошо

просматривались включения. Наблюдалось одностороннее и многостороннее почкование. По форме основную массу составляли овальные клетки.

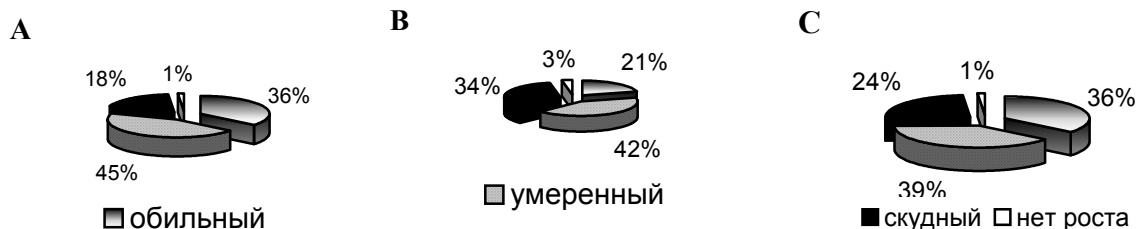


Рис. 2 Рост дрожжей на минеральной среде с добавлением: А – сырая нефть; В – дизельное топливо; С – флотский мазут

Fig. 2 Yeasts' growth on the mineral medium with adding: A – crude oil; B – diesel oil; C – black oil

У всех выделенных культур дрожжей была проверена способность роста на нефти и нефтепродуктах (рис. 2). Как видно из представленных на рис. 2 данных, обильный и умеренный рост наблюдался у 81 % культур дрожжей на сырой нефти, 75 % на флотском мазуте и 63 % на дизельном топливе. Это несколько отличается от роста бактерий, выделенных ранее из Севастопольской бухты, которые более интенсивно росли на соляре [15].

Несмотря на то, что дрожжи способны использовать нефтяные углеводороды, имеют-

ся данные, что при катастрофических разливах нефти наблюдается угнетение местной дрожжевой флоры, в том числе способной утилизировать углеводороды нефти [19].

В этой связи изучался рост дрожжей после воздействия на них дизельного топлива и последующего хранения на питательной среде. В эксперименте, результаты которого приведены на рис. 3, были использованы 5 культур.

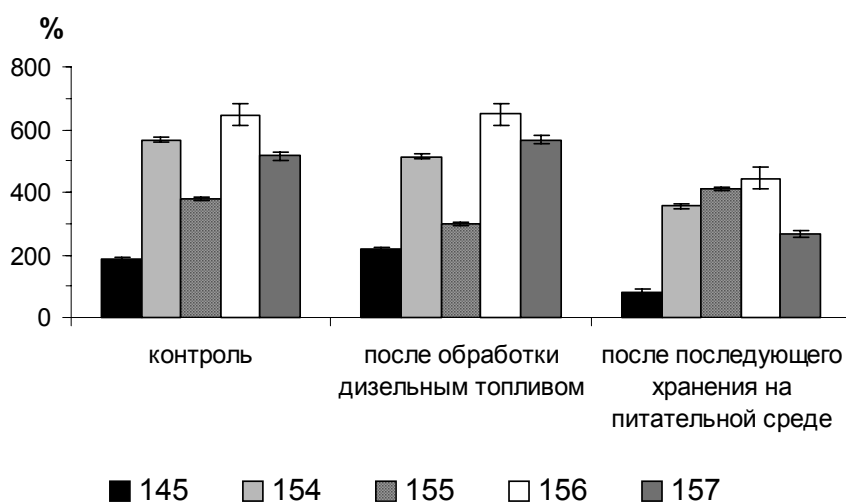


Рис. 3 Интенсивность роста культур дрожжей до и после воздействия нефтепродуктов

Fig. 3 Growth activity of yeasts cultures before and after effect of oil products

Полученные данные (средние величины из 5 повторностей) показывают отсутствие достоверных различий в росте дрожжей до и после обработки токсикантом. Однако высокие концентрации нефтепродукта – 1 – 3 г/л, что возможно при аварийных разливах, всё же оказали влияние на некоторые культуры дрожжей. Последующий рост культур после месяца инкубации на питательной среде был менее интенсивен, чем первоначальный.

**Выводы.** Впервые выделены дрожжи из перифитона систем гидробиологической очистки морской воды. Среди них преобладали

крупные, тёмные, овальные, с односторонним почкованием клетки. Все выделенные культуры дрожжей могли использовать нефть или нефтепродукты в качестве единственного источника углерода и энергии. Установлено, что высокие концентрации нефтяных углеводов могут негативно влиять на рост дрожжей.

**Благодарности.** Авторы искренне благодарны С. А. Хворову (ИнБИОМ НАН Украины, Севастополь) за фотосъёмку исследуемых культур дрожжей.

1. Горбенко Ю. А. Экология морских микроорганизмов перифитона. – Киев: Наук. думка, 1977. – 252 с.
2. Дорошенко Ю. В. Микрофлора нефтегавани Севастопольской бухты (Чёрное море) // Морск. экол. журн. – 2005. – Отд. вып., № 1. – С. 33 – 37.
3. Дорошенко Ю. В. Системы гидробиологической очистки как способ повышения качества природных вод / Проблемы природопользования, устойчивого развития и техногенной безопасности регионов: Тез. докл. III Межд. конф. (Днепропетровск, 3 – 8 октября 2005 г.). – Днепропетровск, 2005. – 2. – С. 141 – 142.
4. Квасников С. И., Ключникова Т. М., Щолокова И. П. Дріжджова мікрофлора мінеральної води «Нафтуса» курорту Трускавець // Мікробіол. журн. – 1975. – 37, № 5. – С. 563 – 568.
5. Квасников Е. И., Щелокова И. Ф. Дрожжи. Биология. Пути использования. – Киев: Наук. думка, 1991. – 326 с.
6. Крисс А. Е. Микробиологическая океанография. – Москва: Наука, 1976. – 269 с.
7. Крисс А. Е., Новожилова М. И. Являются ли дрожжевые организмы обитателями морей и океанов? // Микробиология. – 1954. – 23, вып. 6. – С. 669 – 683.
8. Литвинов М. А. Распространение микроскопических мицелиальных грибов и дрожжевых организмов в водах Атлантического океана / Проблемы циркуляции в атмосфере и гидросфере Атлантического океана. – Л., 1970. – С. 11 – 117.
9. Миллс Ф. Статистические методы. – М.: Гос. стат. изд-во, 1958. – 800 с.
10. Миронов О. Г. Нефтеокисляющие микроорганизмы в море. – Киев: Наук. думка, 1971. – 232 с.
11. Миронов О. Г. Микробиологическая индикация нефтяного загрязнения морской среды / Методы исследования органического вещества в океане. – М.: Наука, 1980. – с. 275 – 283.
12. Миронов О. Г. Взаимодействие морских организмов с нефтяными углеводородами. – Л.: Гидрометеиздат, 1985. – 128 с.
13. Миронов О. Г., Кирюхина Л. Н., Алёмов С. В. Санитарно-биологические аспекты экологии севавтопольских бухт в XX веке. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2003. – 185 с.
14. Миронов О. Г., Кирюхина Л. Н., Дивавин И. А. Санитарно-биологические исследования в Чёрном море. – С.-Петербург: Гидрометеиздат, 1992. – 115 с.
15. Миронов О. Г., Кирюхина Л. Н., Кучеренко М. И. Самоочищение в прибрежной акватории Чёрного моря. – Киев: Наук. думка, 1975. – 144 с.
16. Миронов О. Г., Степанова О. А., Губасарян Л. А. Микромир в санитарно-биологических исследованиях. – Севастополь: Манускрипт, 1995. – 95 с.
17. Новожилова М. И. Количественная характеристика, видовой состав и распространение дрожжевых организмов в Чёрном, Охотском морях и Тихом океане // Труды Ин-та микробиол. АН СССР. – 1955. – 4. – С. 155.
18. Новожилова М. И. Аспорогенные дрожжи и их роль в водоёмах. – Алма-Ата: Наука, 1979. – 200 с.
19. Hagler A. N., Ahearn D. G. Ecology of aquatic yeasts // The yeasts. – 2nd ed./ Ed. A. H. Rose, J. S. Harrison. – London etc.: Acad. Press, 1986. – 1 – P. 181 – 205.

20. Prabhakaran N., Sivadas P. Hydrocarbon degrading yeasts from Cochin Backwater // J.-Mar.-Biol.-Assoc.-India. – 1995 – **37**, № 1-2. – P. 226 – 230.
21. Zinjarde S. S., Pant A. A. Hydrocarbon degraders from tropical marine environments // Marine Pollution Bulletin. – 2002. – **44**, № 2. – P. 118 – 121.
22. ZoBell C. E. Marine Microbiology. – USA: Waltham Mass., 1946. – 380 p.

*Поступила 09 сентября 2006 г.*

*После доработки 03 января 2007 г.*

**Нафтоокислюючі дріжджі в перифітоні систем гідробіологічної очистки морських вод. О. Г. Міронов, Ю. В. Дорошенко.** Вперше виділені дріжджі з перифітону систем гідробіологічної очистки морської води. Переважали великі, темні, овальні, з одностороннім брунькуванням клітини. Всі виділені культури дріжджів могли використовувати нафту чи нафтопродукти в якості єдиного джерела вуглецю та енергії. Високі концентрації нафтових вуглеводнів проявляють негативний вплив на ріст дріжджів.

**Ключові слова:** дріжджі, нафтове забруднення, система гідробіологічної очистки, Чорне море

**The oil-oxidasing yeast in periphyton of systems of hydrobiological cleaning of marine waters. O. G. Mironov, J. V. Doroshenko.** The yeasts from periphyton of the marine water cleaning hydrobiological system have been isolated for the first time. Big, dark, oval cells with onese gemmation prevailed. All isolated yeast cultures could use oil or oil products as a single source of carbon and energy. High concentrations of oil hydrocarbons cause negative effect on the yeasts growth.

**Key words:** yeasts, oil contamination, system of hydrobiological cleaning, Black Sea