

Среда обитания
водных биологических ресурсов

УДК 551.465

Биохимический мониторинг прибрежных вод Чёрного моря

А.И. Агатова, Н.М. Лапина, Н.И. Торгунова

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО);
E-mail: vniro@vniro.ru

Проведён анализ пространственно-временной изменчивости количества и биохимического состава растворённого и взвешенного органического вещества (ОВ) в прибрежных водах Чёрного моря. Показано, что скорости окисления ОВ на Кавказском шельфе Чёрного моря увеличиваются осенью, что приводит к уменьшению содержания ОВ в 1,5–3 раза от лета к осени как в поверхностном, так и в придонном слое. Среднее время оборота фосфатов по всему побережью — 10–20 ч, что обеспечивает интенсивное первичное продуцирование ОВ летом на их рециклинге. В течение суток весь имеющийся белок утилизируется прибрежными экосистемами благодаря активной протеазе.

Ключевые слова: прибрежная экосистема, взвешенное и растворённое органическое вещество, биохимический состав, активность ферментов, трансформация.

ВВЕДЕНИЕ. Прибрежные воды Чёрного моря в течение долгого времени подвергаются значительному антропогенному воздействию из-за высокой техногенной активности в прибрежной зоне и на акватории шельфа (в основном связанной с объектами нефтегазового комплекса), рекреационной нагрузки, материкового стока с сопутствующим загрязнением, что оказывает серьёзное негативное влияние на условия среды обитания морских гидробионтов (в том числе и промысловых объектов) и биопродуктивность. Биохимический мониторинг прибрежных морских экосистем, основой которого является изучение пространственно-временной изменчивости концентраций растворённого и взвешенного органического вещества (РОВ и ВОВ соответственно), его основных биохимических компонентов (белков, углеводов, липидов и нуклеиновых кислот), а также изучение скорости преобразования органического вещества (ОВ), да-

ёт возможность проследить за изменением, как первичной продуктивности, так и продуктивности высших трофических уровней экосистемы под влиянием антропогенных и природных факторов.

За последние десятилетия биохимические методы исследования морских экосистем приобрели большое значение, т.к. они позволяют не только качественно оценить изменчивость ОВ в продукционно-деструкционном цикле, но и с помощью методов энзимологии проследить короткопериодную кинетику продукционно-деструкционных процессов.

Репрезентативными показателями содержания РОВ и ВОВ являются концентрации растворённого и взвешенного органического углерода ($C_{\text{орг}}$), позволяющие судить о запасах ОВ и трофности водоёма. Для всей шельфовой зоны большое значение имеет речной сток, влияние которого неоднозначно и зависит от

объёма стока и концентрации ОВ в приносимых водах.

Преобразование ОВ в экосистеме осуществляется главным образом с помощью ферментов — белковых катализаторов, обладающих высокой каталитической активностью и специфичностью. Главная роль в этих преобразованиях принадлежит микроорганизмам, поэтому измерение активности соответствующих ферментов катаболизма во взвеси даёт возможность сравнить скорости и пути преобразования ОВ, скорости регенерации биогенных элементов и их оборачиваемость в продукционно-деструкционном цикле, а также оценить полноту использования вещества и энергии в метаболизме морской экосистемы.

В настоящей работе проанализированы закономерности распределения ОВ, его основных биохимических компонентов и активность окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов в шельфовой зоне северо-западной и северо-восточной частях Чёрного моря, причём, в северо-восточной части анализ проводился в разные сезоны в течение последних 20 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Представленные данные были получены в июле—августе 1989 г. (24-й рейс НПС «Академик Книпович»), в сентябре 1996 г. (15-й рейс НИС «Южморгеология»), во время комплексных экспедиций по изучению прибрежной зоны северо-восточной части Чёрного моря (включая Керченский пролив) в июле 2003 г., сентябре 2005 г., в июле—августе 2010 г., в мае и августе 2011 г.

Пробы воды отбирали пластиковыми батометрами, опускаемыми на тросе или непосредственно с лебёдки, либо с помощью зондирующего комплекса «Нейл Браун». Методы отбора проб, выделения взвеси и определения растворённого и взвешенного $C_{орг}$ и основных биохимических компонентов РОВ и ВОВ подробно описаны в «Справочнике гидрохимика» [1993].

Растворённый $C_{орг}$ определяли как методом мокрого сжигания на автоанализаторе «Technicon», так и методом высокотемпературного каталитического сжигания на приборах ТОС-500 и ТОС-5000 фирмы «Shimadzu». Взвешенный $C_{орг}$ определяли исходя из суммы основных биохимических компонентов ВОВ.

Коэффициент пересчёта и растворённого, и взвешенного $C_{орг}$ в соответствующую концентрацию ОВ принимали равным 2.

Для оценки скоростей трансформации ОВ и регенерации биогенных элементов в прибрежных экосистемах мы определяли: 1) активность фосфатазы, катализирующей гидролитическое отщепление неорганического фосфата от фосфоорганических соединений; 2) активность протеазы, катализирующей гидролитическое расщепление белков на составляющие их аминокислоты; 3) активность окислительно-восстановительных ферментов электрон-транспортной системы (ЭТС), катализирующих окисление соответствующих субстратов до CO_2 и воды. Таким образом, измеренные активности ЭТС позволили судить о скоростях потребления кислорода, т.е. о гетеротрофной активности микропланктона; измеренные активности щелочной фосфатазы — о скоростях регенерации фосфатов и степени лимитирования ими продукционных процессов; а активность протеазы — о скоростях регенерации азота. Активность всех вышеуказанных ферментов измеряли при температуре *in situ* спектрофотометрическими методами, которые подробно описаны в «Руководстве по современным биохимическим методам исследования водных экосистем» [2004].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. При широкомасштабном рассмотрении летнего распределения растворённого ОВ в шельфовой зоне всего Чёрного моря была выявлена тенденция последовательного уменьшения концентраций растворённого $C_{орг}$ от устья Дуная и северо-западного шельфа (около 800 мкМ), до берегов Крыма (около 400 мкМ) и Кавказа (около 300 мкМ) (рис. 1). Основными источниками ОВ здесь являются крупные реки (Днепр, Днестр, Буг, Дунай) и повышенная первичная продукция северо-западного шельфа Чёрного моря. Выделяющееся же пятно повышенных концентраций (600 мкМ $C_{орг}$) в проливной зоне северо-восточного шельфа связано с влиянием вод Азовского моря, распространение которых при определённых гидрометеорологических условиях и динамике вод прослеживается вплоть до Анапы.

Аналогичным образом меняется и концентрация взвешенного $C_{орг}$, её значения колеблются от максимальных 125 мкМ $C_{орг}$ на болгар-

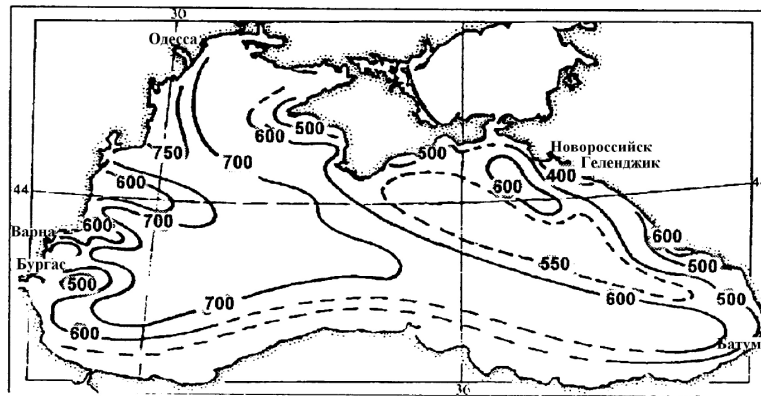


Рис. 1. Распределение растворённого $C_{орг}$, мкМ, на поверхности в Чёрном море в летний период

ском и северо-западном шельфах до минимальных 6,2 мкМ $C_{орг}$ на кавказском шельфе. Доля взвешенного ОВ в общем пуле ОВ меняется от 10–15 % (в зонах впадения больших рек, влияния вод Азовского моря и во время усиленной ветровой деятельности на мелководье) до 2–5 % (в зонах незначительного влияния берегового стока и минимальной биомассы микропланктона). Довольно трудно дать количественную оценку межсезонной изменчивости концентраций ОВ, т.к. слишком велика их межгодовая изменчивость. Однако по имеющимся данным проведенных исследований в предпроливной зоне северо-восточной части Чёрного моря в разные сезоны 2010–2011 гг. прослеживается тенденция сначала увеличения содержания растворённого ОВ от весны к лету в 1,5 раза, а затем уменьшения в 1,5–2 раза от лета к осени как в поверхностном, так и в придонном слое, что связано в первую очередь с интенсивностью продукционно-деструкционных процессов. Так, снижение интенсивности первичного продуцирования ОВ к осени приводит к уменьшению концентраций РОВ в этот сезон.

На формирование локальных областей повышенных и пониженных концентраций ОВ в прибрежной зоне Чёрного моря оказывают большое влияние как береговой сток, так и процессы обмена «вода—дно», причём в прибрежных водах большое влияние оказывает речной сток не только крупных, но и мелких рек. Возросшая в последнее десятилетие антропогенная нагрузка вызывает бурное развитие микроорганизмов, которые не только потребляют поступающее с береговым стоком ОВ, но и укорачивают трофические цепи в потреблении пер-

вичнопродуцируемого ОВ [Сорокин, 1982]. Это приводит к развитию таких неприхотливых видов как желетелье моллюски и медузы, вытесняющие ценные породы промысловых рыб. Надо отметить, что в пелагиали Чёрного моря запасы ОВ на порядок превышают его запасы в Мировом океане за счёт накопления растворённого $C_{орг}$ в глубинных сероводородных водах [Торгунова, 1994], что делает его практически недоступным для потребления на высших трофических уровнях.

Наибольшая пространственно-временная изменчивость концентраций ОВ проявляется именно на шельфе, причём прибрежные воды различных районов Чёрного моря отличаются не только по концентрациям растворённого и взвешенного $C_{орг}$, но и по биохимическому составу ОВ. Так, ОВ болгарского и северо-западного шельфов по сравнению с кавказско-крымским шельфом обогащено липидами. Здесь концентрация липидов в растворённом ОВ часто превышает содержание углеводов, а концентрации взвешенного белка в западных прибрежных водах в 4–8 раз выше, чем в восточных, что указывает на более высокую трофность этих вод. В местах культивирования мидий на северо-восточном побережье в районе Туапсе—Магри летом почти вдвое увеличивается содержание нуклеиновых кислот и азотистых оснований во взвешенном ОВ. Вполне возможно, что в это время идет интенсивное развитие микрогетеротрофов на метаболитах мидий [Торгунова и др., 1992; Agatova, Sapozhnikov, 1998].

Как правило, концентрация РОВ в придонном слое ниже концентрации в поверхностных водах. Особенно эта закономерность хорошо

выражена в проливном районе и в районе Анапы. Однако в этих районах как летом, так и осенью поверхностные воды практически не отличаются от придонных по биохимическому составу, что указывает на их хорошее перемешивание. Создается впечатление, что уменьшение концентрации РОВ в придонном слое происходит за счёт его частичной сорбции на поверхности осадка.

В прибрежных черноморских экосистемах за счёт активизации целого ряда ферментов возрастает скорость деструкционных процессов ОВ и ускоряется оборот биогенных элементов. Здесь наблюдаются большие пределы колебаний активности окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов, что связано с большим разнообразием в популяциях гетеротрофного микропланктона, заселяющего мелководную береговую зону Чёрного моря. Значения общей активности ЭТС во все годы наблюдений (1989–2010 гг.) по северо-кавказскому побережью изменялись практически на 2 порядка (от 0,43 до 33,8 мкг ОВ/л·ч). Как правило, максимальные величины получены в проливной зоне, а минимальные — в районе Новороссийск–Геленджик (рис. 2).

Интересно, что по активности ферментов ЭТС летом прослеживается такая же закономерность, как в случае с описанным выше распределением ОВ — значительное уменьшение активности от проливной зоны до района Новороссийск–Геленджик, а затем увеличение активности в 5 раз в районе Сочи-Адлер [Агатова и др., 2005]. Осенью изменение окислительно-восстановительной активности от проливной зоны до района Сочи-Адлер не такое резкое, от 8–10 мкг ОВ/л·ч до минимального (3,81 мкг ОВ/л·ч) в районе установки мидийных коллекторов (Туапсе–Магри). Следует отметить, что более высокая активность ферментов ЭТС (как удельная, так и общая) осенью по сравнению с летом, за исключением района Сочи-Адлер, обусловлена как увеличением биомассы микрогетеротрофов, так и активированием самих окислительно-восстановительных ферментов. Интенсификация процессов окисления ОВ осенью приводит к заметному уменьшению (в 1,5–2 раза) концентраций и растворённого, и взвешенного ОВ. Значительное падение (в ряде случаев более, чем на по-

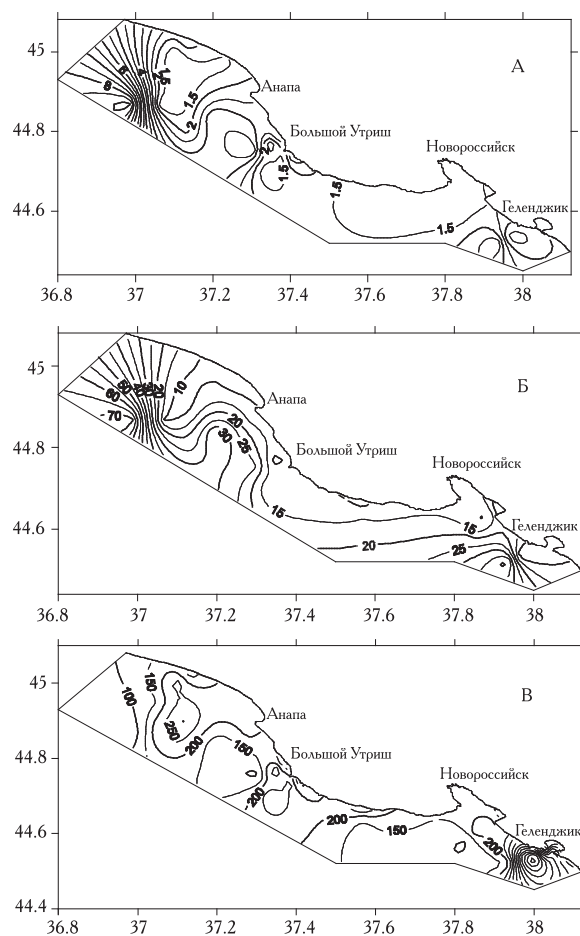


Рис. 2. Распределение активности ферментов ЭТС в поверхностном слое в летний сезон: *А* — общая, мкг ОВ/л·ч; *Б* — удельная, мкг ОВ/ч·мг белка; *В* — времена регенерации ОВ, сут

рядок) концентраций липидов позволяет предположить, что в первую очередь окисляются эти высокоэнергетические соединения.

Как правило, значения общей активности ЭТС в поверхностных водах выше этих значений в придонном слое, в то время как удельные активности ЭТС, за исключением проливной зоны, часто увеличиваются с глубиной. Непропорциональное изменение общей активности относительно изменения удельной указывает на колебание количества микропланктона, способного на соответствующую ферментативную реакцию в данной популяции. В проливной же зоне зарегистрированная максимальная удельная активность ферментов ЭТС соответствовала и максимальной общей активности, т.е. высокая окислительно-восстановительная активность во фракции взвеси определялась здесь высокой

окислительно-восстановительной способностью микропланктона. Интересно, что во многих районах (Тамань, Б. Утриш, Новороссийск—Геленджик) при удалении от берега в пелагиаль увеличивается общая активность ферментов ЭТС за счёт увеличения их удельной активности, т.е. в популяции микропланктона возрастает доля гетеротрофов, способных окислять различные ОВ.

Определение скоростей реакций, катализируемых ферментами ЭТС в северо-восточной части Чёрного моря, позволило нам оценить время распада ОВ в этом районе. Широкий диапазон значений общей активности ЭТС обусловил и большие колебания времени полного окисления ОВ — от 16 до 463 сут. Полученные максимальные значения активности ЭТС в проливной зоне, несмотря на высокие концентрации растворённого и взвешенного ОВ, определяют здесь минимальные времена рециклинга ОВ (от 23 до 99 сут). Исключая проливную зону, по всему побережью от Тамани до Сочи среднее время оборота ОВ равно примерно 200 сут, т.е. ОВ в прибрежной зоне обновляется меньше, чем за год.

Минерализация фосфоорганических соединений наиболее активно происходит также в проливной зоне (рис. 3), а летом 2011 г. здесь были получены максимальные значения общей активности фосфатазы (до 0,325 мкМ Р/л·ч).

Следует отметить очень высокую межгодовую изменчивость величин и общей, и удельной активности фосфатазы, поэтому трудно точно определить, какова сезонная изменчивость этих величин. Можно говорить только о тенденции. Так, в районе Новороссийск—Геленджик скорости расщепления фосфоорганических соединений осенью в 1,5—2 раза выше, чем летом. Тогда как в районах Туапсе—Магри и Сочи—Адлер осенью в поверхностном слое общая и удельная активности фосфатазы были ниже, чем летом. В то же время в прибрежной зоне проливного района значения общей активности фосфатазы были максимальными летом, когда после исчерпания зимнего запаса биогенных элементов во время весеннего цветения образование первичной продукции идет в основном на их рециклинге.

Определение величин общей активности фосфатазы и концентраций органического фос-

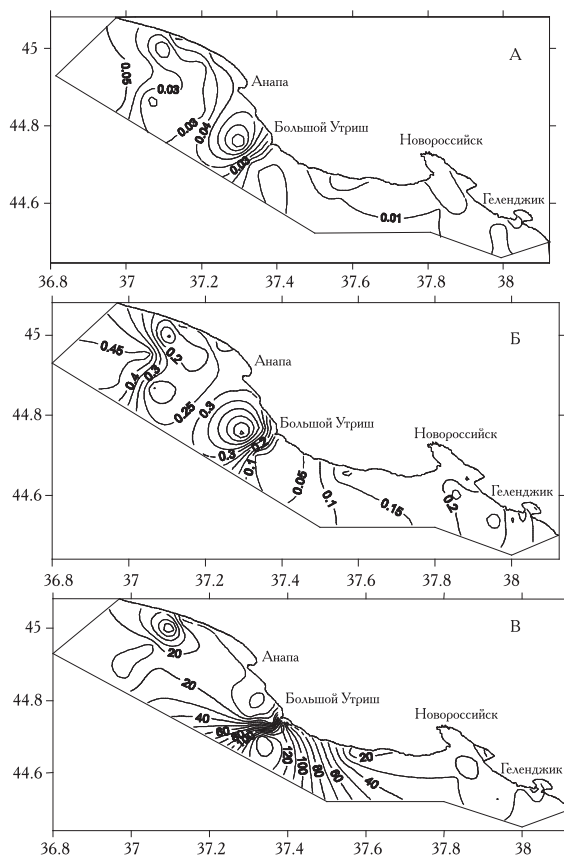


Рис. 3. Распределение активности фосфатазы в поверхностном слое в летний сезон: *A* — общая, мкМ Р/л·ч; *B* — удельная, мкМ Р/ч·мг белка; *B* — время регенерации фосфатов, ч

фора позволило нам рассчитать время полной регенерации фосфатов в прибрежной части северо-восточной части моря (см. рис. 3). Несмотря на максимальные значения общей активности в проливной зоне, среднее время оборота фосфатов такое же, как по всему побережью (10—20 ч). Здесь это объясняется высокой концентрацией органического фосфора (около 1,2 мкМ), превышающей среднюю концентрацию, характерную для северо-восточного побережья, в 3—4 раза. В районе же Туапсе—Магри при одинаковых средних значениях концентраций органического фосфора, повышенное значение общей активности фосфатазы обуславливает минимальное время рециклинга фосфатов (3—5 ч). Ранее [Агатова, Торгунова, 1992] нами было показано, что летом и у берегов Крыма, и на Болгарском шельфе время регенерации фосфатов не превышает суток. А у берегов Варны в поверхностных во-

дах даже не удалось определить концентрацию органического фосфата, так быстро он минерализовался (около 6 мин), хотя продукция была очень высокой — 1174 мг С под м³ в сут. Таким образом, быстрая оборачиваемость фосфатов может обеспечить интенсивное первичное продуцирование ОВ на их рециклинге.

Насколько быстро происходит гидролиз других ОВ (помимо фосфоорганических соединений), можно было составить представление, измеряя активность протеаз. Следует отметить, что самые большие пределы изменения значений общей активности ферментов на шельфе северо-восточной части моря характерны именно для протеазы. Средние значения общей протеазной активности изменяются от 0,015 до 0,210 мг азоказ/л·ч, а удельной — от 0,060 до 0,395 мг азоказ/мг·белка ч. Для пространственного распределения протеазной активности характерна пятнистость с максимумами и минимумами (рис. 4).

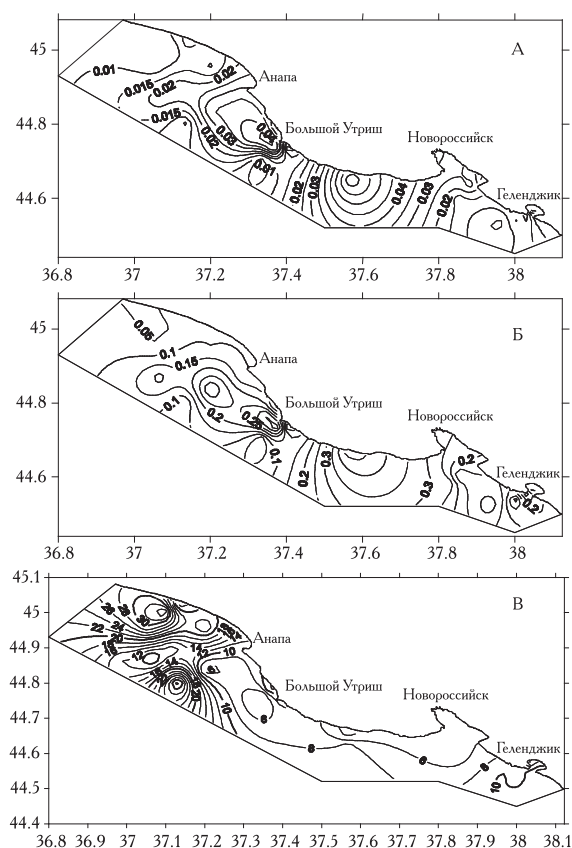


Рис. 4. Распределение активности протеазы в поверхностном слое в летний сезон: *А* — общая, мг азоказ/л·ч; *Б* — удельная, мг азоказ/ч·мг белка; *В* — время оборота белка, ч

Величины протеазной активности во всех прибрежных районах (за исключением проливного района) уменьшаются практически в 2 раза от поверхности до дна. В проливном же районе протеаза почти на порядок активнее в придонном слое, чем в поверхностном. Это может быть связано с тем, что в динамически активной зоне происходит довольно интенсивный обмен на границе «вода—дно», в результате которого либо в придонный слой попадает микробентос, обладающий протеазной активностью, либо происходит активация фермента на частичках взвеси. Второе более вероятно, т.к. в этом случае не происходит увеличения концентрации ни взвешенного, ни растворённого белка, тогда как величина удельной активности возрастает более, чем в 6 раз по сравнению с поверхностными водами. Среднее время оборота белка, рассчитанное исходя из величины протеазной активности и концентрации белка в исследуемом регионе, не превышает 20 ч, т.е. в течение суток весь имеющийся белок утилизируется прибрежными экосистемами. В придонном же слое проливного района и в поверхностном слое в районе Туапсе—Магри это время минимально (около 3 ч).

Таким образом, прибрежные экосистемы вырабатывают пути утилизации привносимых веществ не только за счёт увеличения биомассы микропланктона, но и за счёт перестройки его метаболизма, что позволяет микроорганизмам перерабатывать разнообразные по химическому строению ОВ. Это способствует быстрой нейтрализации поступающих загрязнений и очищению прибрежных вод от метаболитов культивируемых беспозвоночных. Скорость преобразования ОВ возрастает благодаря активации различных гидролаз, а также активации окислительно-восстановительных процессов.

Быстрая утилизация прибрежной экосистемой поступающих веществ за счёт изменения метаболизма микрофлоры может приводить к образованию большой биомассы как гетеротрофного, так и автотрофного планктона, а также к ускорению оборота ОВ и биогенных элементов в продукционно-деструкционном цикле.

В целом ряде случаев происходят катастрофические изменения экосистемы, например вредоносное цветение водорослей — «красный

прилив». Биохимический анализ причин, вызвавших подобное цветение водорослей у берегов Болгарии, показал, что на болгарском шельфе в прибрежных водах на входе в Варненский залив происходит накопление продуктов полураспада ОВ в результате его интенсивного гидролитического расщепления [Agatova, Sapozhnikov, 1998]. В то же время активность ферментов ЭТС, катализирующих окисление продуктов полураспада до CO_2 и тем самым выводящих их из экосистемы шельфа, была равна аналитическому нулю. Накопление низкомолекулярных ОВ, в основном мочевины и аминокислот, привело к переходу некоторых видов фитопланктона на гетеротрофное питание, в процессе которого они использовали эти субстраты. В частности, бурно развивается *Goniaulax polyedra*, способный окислять эти соединения до CO_2 .

Изменения в метаболизме прибрежных экосистем могут оказаться необратимыми и привести к их глубокой перестройке на высших трофических уровнях. Например, к массовому развитию короткоциклового вида (в основном желетелых), распространению чужеродных видов (вселенцев) и довольно существенным изменениям в донных биоценозах как на западном, так и на восточном шельфах.

Для оздоровления природной среды Чёрного моря необходимо осуществлять комплекс природоохранных мероприятий. Одним из перспективных способов борьбы с эвтрофикацией является развитие марикультуры беспозвоночных (мидии, устрицы) в прибрежных водах. Помимо отфильтровывания поступающего с береговым стоком ВОВ культивируемыми моллюсками здесь очень интенсивны деструкционные процессы, в результате которых происходит не только расщепление ОВ до низкомолекулярных соединений, но и его полная минерализация.

Биохимические исследования морских экосистем, особенно сопоставление активности соответствующих ферментов расщепления ОВ до низкомолекулярных соединений и скорости окисления этих соединений до CO_2 , являются

перспективными для быстрой оценки степени опасности тех или иных воздействий на прибрежные экосистемы Чёрного моря.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и администрации Краснодарского края (грант № 08–05–96500–р-юг-а)

ЛИТЕРАТУРА

- Агатова А.И., Лапина Н.М., Торгунова Н.И., Кирпичёв К.Б. 2001. Биохимические исследования морских экосистем солоноватых вод // Водные ресурсы. Т. 28. № 4. — С. 470–479.
- Агатова А.И., Торгунова Н.И. 1992. Биологическая активность взвеси и регенерация биогенных элементов в зоне шельфа Чёрного моря // Экология прибрежной зоны Чёрного моря / Ред. В.В. Сапожников. — М.: ВНИРО. — С. 275–305.
- Агатова А.И., Аржанова Н.В., Лапина Н.М., Торгунова Н.И., Красюков Д.В. 2005. Пространственно-временная изменчивость органического вещества в прибрежных экосистемах кавказского шельфа Чёрного моря // Океанология. Т. 45. — С. 670–677.
- Руководство по современным биохимическим методам исследования водных экосистем, перспективных для промысла и марикультуры / Ред. А.И. Агатова. — М.: Изд-во ВНИРО. 2004. — 123 с.
- Сорокин Ю.И. 1982. Роль микрогетеротрофов в функционировании морских экосистем // Успехи современной биологии. Т. 93. № 2. — С. 236–252.
- Справочник гидрохимика / Ред. В.В. Сапожников. — М.: Агропромиздат. 1991. — 224 с.
- Торгунова Н.И., Агатова А.И., Козлов Ю.И. 1992. Распределение в прибрежной зоне растворённого и взвешенного органического вещества и его биохимических компонентов // Экология прибрежной зоны Чёрного моря. — М.: ВНИРО. — С. 306–319.
- Торгунова Н.И. 1994. Новые представления о распределении растворённого органического вещества в Чёрном море // Океанология. Т. 34. № 1. — С. 57–61.
- Agatova A.I., Sapozhnikov V.V. 1998. Ecological aspects of the biochemical studies in the coastal waters of the Black Sea // Conservation of the biological diversity as a prerequisite for sustainable development in the Black Sea region / Ed. Kotlyakov V.M. — Kluwer Acad. Publ. — P. 243–257.
- Cotner J.B., Sada R.H., Bootsma H. 2000. Nutrient limitation of heterotrophic bacteria in Florida Bay // Estuaries. V. 23. N. 6. — P. 611–620.
- Nausch M. 1998. Alkaline phosphatase activities and the relationship to inorganic phosphate in the Pomeranian Bight (southern Baltic Sea) // Aquat. Microb. Ecol. V. 16. — P. 87–94.

Biochemical monitoring of the Black Sea Coastal Waters

A.I. Agatova, N.M. Lapina, N.I. Torgunova

Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO)

Spatial and temporal variability in stocks and biochemical composition of dissolved and particulate organic matter (OM) in the Black sea shelf waters. Rates of the OM oxidation in the Caucasian shelf waters of the Black Sea increase in autumn leading to decline in the OM stocks by 1,5–3 times compared to summer both in the surface, and the bottom layers. Average period of the phosphate turnover is 10–20 h along the entire studied coastal area; thus, the phosphate recycling provides for intensive primary production of OM in summer. Owing to the active protease, coastal ecosystems utilize all the available protein during one day.

Key words: coastal ecosystem, dissolved and particulate organic matter, biochemical constituents, enzyme activity, transformation.