

MOLIUSKŲ BAKTERIOFLORA *IN VITRO*

Janina Šyvokienė

*Gamtos tyrimų centras, Ekologijos institutas, Akademijos g. 2, LT-08412 Vilnius-21
tel. +370 5 272 9241; faks. +370 5 272 9352; el. paštas: janina370@yahoo.com*

Santrauka. Įvertinta dvigeldžių moliuskų didžiosios geldenės (*Anodonta cygnea* Linnaeus, 1758) ir pleštakiautės geldutės (*Unio tumidus* Philipson, 1788) virškinimo sistemos autochtoninės ir alochtoninės bakteriofloros gausa, sudėtis ir angliavandenilius skaidančios bakterijos, kaip galimos taršos naftos angliavandeniliais biožymenos. Moliuskai mikrobiologiniams tyrimams surinkti Nemuno avandeltuje ties Atmata, Atmatoje ir Aklame upelyje. Moliuskų virškinimo sistemos bakterioflora buvo tirta skiedimų ir užsėjimo ant agarizuotų terpių metodika. Nustatyta, kad tirtų dvigeldžių moliuskų virškinimo sistemoje funkcinų grupių bakterijų gausumo vertės svyruoja, atskirų rūšių individų yra skirtingos ir priklauso nuo vandens telkinio. Bendros heterotrofinės, proteolitinės ir amilolitinės bakterijos, atliekančios svarbų vaidmenį virškinant bakterijas dvigeldžiuose moliuskuose *A. Cygnea* ir *U. tumidus*, sugautuose skirtingose vandens ekosistemose, pasižymėjo įvairovės gausa. Daugiausia bendrų heterotrofinių, proteolitinių ir amilolitinų bakterijų nustatyta *U. tumidus*, sugautų Atmatoje, ir *A. Cygnea*, sugautų Aklame upelyje, virškinimo sistemoje. Nustatyti dvigeldžių moliuskų *A. Cygnea* ir *U. tumidus* virškinimo sistemoje esančios bakteriofloros pusiausvyros pokyčiai dėl įsivyravusių angliavandenilius skaidančių ir žarnyno grupės bakterijų. Tai rodo galimą vandens ekosistemos užterštumą nafta ir jos produktais, taip pat buitiniiais nutekamaisiais vandenimis. Nustatyta, kad angliavandenilius skaidančių bakterijų gausumo vertės moliuskuose svyravo nuo 0,9 proc. iki 64,3 proc. Daugiausia bendrų žarnyno grupės bakterijų rasta moliuskų *A. cygnea* ir *U. tumidus*, sugautų Atmatoje ir Aklame upelyje (jų gausumo vertė buvo nuo 1,2 proc. iki 4,33 proc.) virškinimo sistemoje.

Raktažodžiai: moliuskai, virškinimo sistema, bakterioflora, biožymenys, tarša, nafta.

BACTERIOFLORA OF MOLLUSCS *IN VITRO*

Janina Šyvokienė

*Institute of Ecology of Nature Research Centre, Akademijos str. 2, LT-08412 Vilnius, Lithuania
Tel. +370 5 2729241, fax +370 5 2729352, e-mail: janina370@yahoo.com*

Summary. The abundance, composition and hydrocarbon-degrading bacteria, as possible biomarkers of contamination with oil hydrocarbons, of autochthonous and alochthonous bacterioflora of the digestive system of bivalve molluscs *Anodonta cygnea* (A) and *Unio tumidus* (U) were estimated. For microbiological examination molluscs were collected in Lithuanian rivers: Avandelta, Atmata and Aklas Stream. Bacterioflora of the digestive system of molluscs was investigated by the methods of attenuation and inoculation on agar mediums. The abundance values of heterotrophic, proteolytic and amilolytic bacteria of functional groups in the digestive system of bivalve molluscs *A. cygnea* and *U. tumidus* in individuals of different species and in investigated rivers were variable. The highest amount of heterotrophic and amylolytic bacteria was determined in *U. tumidus* from Atmata river and *A. cygnea* from the Aklas Stream. The high amounts of hydrocarbon-degrading and coliform group bacteria in molluscs from Atmata and Aklas Stream rivers showed possible contamination of water by petroleum, its products and effluent. It was established that abundance of hydrocarbon-degrading bacteria in molluscs ranged from 0.9 % to 64.3 %. Further, the highest prevalence of coliform bacteria (from 1.2% to 4.3%) was registered in digestive system of molluscs *A. cygnea* and *U. tumidus* from Atmata and Aklas Stream rivers.

Keywords: molluscs, digestive system, bacterioflora, biomarkers, pollution, petroleum.

Įvadas. Vandens gyvūnų virškinimo sistema yra atvira, nuolat kontaktuojanti su aplinka – vandeniu. Be abejo, aplinkos mikroflora atlieka svarbų vaidmenį formuojantis vandens gyvūnų virškinimo sistemos mikroflorai, todėl, skirtingai nuo šiltamėgių gyvūnų, kur vyrauja obligatiniai anaerobiniai mikroorganizmai, iš vandens gyvūnų virškinimo sistemos buvo išskirtos aerobinės ir fakultatyvinės anaerobinės bakterijos.

Ankstesni mūsų tyrimai parodė, kad vandens gyvūnų virškinimo sistemoje yra natūraliai susiformavusios autochtoninių ir atsitiktinių angliavandenilius skaidančių bakterijų populiacijos. Naftai ir naftos produktams patekus į vandens gyvūnų virškinamąjį traktą su maistu arba su vandeniu, padaugėja angliavandenilius skaidančių

bakterijų bendrija, geriau prisitaikanti utilizuoti naują substratą (Šyvokienė ir kt., 2005).

Tikėtina, kad vandens gyvūnų virškinimo sistemos mikroorganizmai, utilizuojantys angliavandenilius kaip mitybos medžiagas, atlieka svarbų vaidmenį vandeniui apsivalant savaime. Heterogeniškoje (substrato ir mikroorganizmų prasme) aplinkoje sunku įvertinti kiekvienos bakterijos įtaką atskirų naftos angliavandenilių degradacijai (Šyvokienė ir kt., 1999). Kita vertus, autochtoninės virškinamojo trakto mikrofloros visumą sudaro daug populiacijų, apimančių būdingas ir atsitiktines bakterijų rūšis. Autochtoninės mikrofloros visumos kiekybinė ir kokybinė sudėtis priklauso nuo vidinių ir išorinių veiksnių. Gyvūnų autochtoninė

virškinamojo trakto mikroflora turi savireguliacijos mechanizmus ir iki tam tikros ribos gali atsispirti kenksmingų sąlygų poveikiui – išlaikyti mikroorganizmų populiacijos pusiausvyrą (Clements, 1997; Кузьмина, 2005). Vandens gyvūnų virškinamajame trakte įsivyravus alochtoninėms angliavandenilius skaidančioms ir bendroms žarnyno grupės bakterijoms, kinta autochtoninės mikrofloros sudėtis ir fermentinis aktyvumas, dėl to sumažėja organizmui gyvybiškai svarbių medžiagų, sintetinių autochtoninių bakterijų, įsisavinimas, pablogėja gyvūno fiziologinė būklė (Мионов и др., 1988; Šyvokienė et al., 2005; Кузьмина, 2005).

Teršalai, patekę į aplinką, iš esmės keičia biologinių sistemų funkcionavimo sąlygas: keičiasi terpės sudėtis, pH, aeracija, toksiškai veikiami organizmai. Tas lemia toje ekosistemoje egzistuojančių dalies mikroorganizmų veiklos slopinimą ar visišką išnykimą, kitų įsivyravimą arba naujų rūšių atsiradimą. Mikroorganizmai, gebantys įsisavinti ksenobiotikus, įgyja pirmenybę vystytis užterštoje aplinkoje (Šyvokienė, 2008b; Kalėdienė, 2009).

Gebėjimas naudoti naftos angliavandenilius kaip energijos ir anglies šaltinį būdingas daugelio mikroorganizmų atstovams (Korda et al., 1997), gyvenantiems ne tik dirvožemyje (Kalėdienė, 2009), vandenyje (Leahy, Colwell, 1990; Štukova, 2006), bet ir vandens gyvūnų virškinimo sistemoje (Мионов и др., 1988; Šyvokienė, Mickėnienė, 2004; Šyvokienė et al., 2005). Į šias bakterijas verta žiūrėti kaip į svarbią, anglies apykaitos cikle dalyvaujančių organizmų grupę. Žinoma daugiau kaip 70 mikroorganizmų genčių, kurių atstovai skaido angliavandenilius (Prince, 2005).

Nafta yra kompleksiausias angliavandenilių šaltinis. Tai sudėtingas alifatinių, aliciklinių, aromatinių angliavandenilių ir dervų kompleksas. Esant mišriam substratui, sunkiau įvertinti junginių atsparumą biodegradacijai. Naftos produktų cheminė sudėtis ir aplinkos sąlygos daro įtaką biodegradacijos intensyvumui. Biodegradacija gali vykti 0–70° C temperatūroje (Roffey, 1989; Löser et al., 1999).

Kai kurių tyrėjų nuomone, aplinkoje nesant augimui tinkamo substrato, o temperatūrai esant žemesnei už optimalią, sumažėja *Pseudomonas*, *Acinetobacter* bakterijų, bet lieka nepakitęs *Rhodococcus* ir *Arthrobacter* bakterijų skaičius (Koronelli, 1996). Iš introdukuojamų į aplinką apvalyti nuo naftos ir jos produktų mikroorganizmų rūšių dažniausiai minimi *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter* bakterijų atstovai ir mikromicetai, priklausantys *Trihoderma*, *Cunninggamela*, *Candida*, *Penicillium* gentims (Atlas, Bartha, 1998; Richard, Vogel, 1999; Gallego et al., 2001; D' Annibale et al., 2006).

Skirtingai biodegraduojantys angliavandeniliai lemia skirtingą įvairių komponentų skaidymo greitį. Netolygus kelių mikroorganizmų vystymasis terpėje aiškinamas jų buvimu viename mitybos lygmenyje (Koronelli, Nesterova, 1990). Mažiausiu toksiškumu pasižymi tiek n-alkanai, tiek aromatiniai junginiai, turintys nuo C₁₀ iki C₂₂ anglies atomų grandinėje (Morgan, Wabhinson, 1989).

Juos mikroorganizmai sunaudoja greičiausiai.

Taigi, nevaldomi alochtoninės bakteriofloros įsigalėjimo procesai gali prasidėti dėl aplinkos užterštumo įvairiais cheminiais junginiais, kai juos skaidančios bakterijos, išstūmusios normalią bakterioflorą, ima vyravoti gyvūnų endosistemose. Tai žymiai sumažina vandens gyvūnų mitybinį efektyvumą ir gali atsiliiepti biocenotiniu lygiu. Viena nusilpusi trofinė grandis suardo visą trofinių ryšių tinklą. Šiame procese ypač svarbu nustatyti požymius, kurie parodytų taršos veikiamo organizmo virškinamojo trakto mikrofloros pokyčius. Jei naftą skaidančios bakterijos yra svarbus vandens ekosistemos taršos indikatorius, tai jų vystymasis vandens gyvūnų virškinimo sistemoje leidžia įvertinti taršos nafta specifiskumą ir proceso intensyvumo mastą daugelyje vandens telkinių (Šyvokienė, Mickėnienė, 2000; Voverienė et al., 2002; Šyvokienė et al., 2004). Taršos biologinių efektų metodologija diegiama vis aktyviau, o gauti rezultatai teikia kokybiškai naujos informacijos vertinant antropogeninės veiklos pasekmes.

Darbo tikslas – ištirti skirtingų biotopų dvigeldžių moliuskų didžiosios geldenės (*Anodonta cygnea*) ir pleštakiautės geldutės (*Unio tumidus*) virškinimo sistemos bakteriocenozėse esančių autochtoninių ir alochtoninių funkcinių grupių bakterijų gausą, sudėtį ir angliavandenilius skaidančias bakterijas, kaip taršos nafta ir naftos angliavandeniliais biožymenas.

Tyrimo objektas ir metodai. Pasirinkti objektai – moliuskai-filtratoriai, gausi vandens gyvūnų populiacija. Jų panaudojimas moksliniams tyrimams nedaro žalos populiacijos dinamikai. Gyvena moliuskai vandens telkinio priedugnyje ir tiesiogiai kontaktuoja su dugno nuosėdose esančiais teršalais. Atlikti dvigeldžių moliuskų didžiosios geldenės (*Anodonta cygnea*, Linnaeus, 1758) (A) ir pleštakiautės geldutės (*Unio tumidus*, Philipson, 1788) (U) (iš viso 34 vnt.), surinktų avandeltoje (1 stotis, 12 vnt.) ties Atmata (Nemuno deltos šiaurės šakos pavadinimas) (A 1, U 1), Atmatoje (2 stotis, 11 vnt.) įtekėjus Minijai (A 2, U 2) ir Aklame upelyje (dirbtiniame kanale) (3 stotis, 11 vnt.) (A 3, U 3), virškinimo sistemos bakterijų tyrimai. Tyrimams medžiaga surinkta pagal kompleksinės ekspedicijos schemą (Četkauskaitė et al., 2005).

Moliuskai laboratoriniams tyrimams buvo atvežami leduose (anabiozės būsenos). Tyrimo objektai nuplaunami distiliuotu vandeniu, moliuskų paviršius nuvalomas vatos tamponais, suvilgytais spiritu. Taip išvengiama, kad išorinė bakterioflora nepatektų į moliuskų virškinimo sistemą, aseptiškai preparuojama virškinimo sistema.

Moliuskų virškinimo sistemos aerobinių ir fakultatyvinių anaerobinių bakterijų gausa ir kokybinė funkcinių grupių bakterijų sudėtis ištirta skiedimų ir užsėjimo ant agarizuotų terpių metodika (Кузнецов, Дубинина, 1989; Ringø, Olsen, 1999). Tyrimams virškinimo sistemos turinys pasvertas ir įdėtas mėgintuvėlių, į kurių įpilta iki 10 ml sterilus fiziologinio tirpalo (NaCl 0,7 proc.), ir homogenizuotas. Toliau atlikti šios suspensijos serijiniai skiedimai: 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10 000. Po 0,1 ml mėginių paviršiniu metodu užsėta ant skirtingos sudėties agarizuotų terpių ir inkubuota 20°C

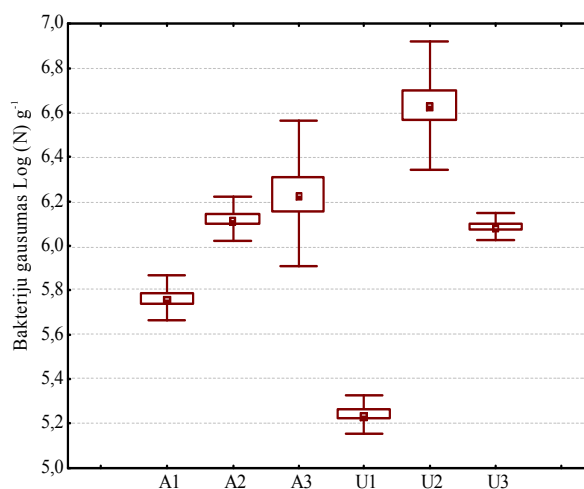
temperatūroje 3–7 paras aerobinėmis sąlygomis. Kiekvienam skiediniui imta po tris Petri lėkštelės. Iš trijų paimtų skiedinių atsirinktos tos lėkštelės, kuriose bakterijų kolonijos nesuliejo ir buvo aiškiai žiūrimos. Trijose lėkštelėse išaugusių kolonijų skaičiaus vidurkį padauginę iš skiedimo laipsnio ir užpilto ant kiekvienos lėkštelės tirpalo kiekio, gauname bakterijų skaičių tame virškinimo sistemos kiekyje, kurį paėmėme. Toliau apskaičiuojame, kiek vienos ar kitos funkcinės grupės bakterijų ląstelių yra 1 g virškinimo sistemos turinio. Mikrobiologiniais metodais iš kiekvienos stoties ištirtos 5–6 individų virškinimo sistemos. Apie vienos ar kitos funkcinės grupės bakterijų buvimą sprendžiame iš jų augimo ant tam tikros, labiausiai tinkamos kiekvienos grupės bakterijų vystymuisi terpės.

Išskirtos penkios bakterijų funkcinės grupės – bendros heterotrofinės, proteolitinės, amilolitinės, bendros žarnyno grupės ir angliavandenilius skaidančios, kaip atskira heterotrofinių bakterijų grupė. Šių grupių bakterijoms išskirti naudotos šios terpės: bendroms heterotrofinėms bakterijoms – triptono sojų agaras; proteolitinės savybės nustatytos naudojant pieno agarą, pagamintą į maitinamąjį agarą (Oxoid) pridėjus 0,4 proc. lieso pieno; amilolitinėms – 0,4 proc. tirpaus krakmolo; bendros žarnyno grupės bakterijos išskirtos naudojant „MacConkey“ (Oxoid) agarą (Sakata, 1989); angliavandenilius skaidančios bakterijos – ant Vorošilovos-Dianovos agaro užpylus žalios naftos. Vorošilovos-Dianovos agaras be žalios naftos naudotas kaip kontrolinis. Proteolitinės savybės nustatytos pagal baltymo kazeino hidrolizės zonas ant pieno agaro, amilolitinės – pagal hidrolizės zonas ant krakmolo agaro, paveikto Liugolio tirpalu. Ant minėtų terpių išaugusios bakterijų kolonijos suskaičiuotos ir jų gausa perskaičiuota į KfV (kolonijų formuojantis vienetas) 1 g virškinimo sistemos turinio. Visi duomenys apdoroti pagal standartines statistines procedūras. Apskaičiuotos vidutinės vertės, vidutiniai kvadratiniai nuokrypiai, 95 proc. pasikliautini intervalai. Bakterijų kiekio skirtumai apskaičiuoti naudojantis statistine programa „Statistica 6“ (Sakalauskas, 2003).

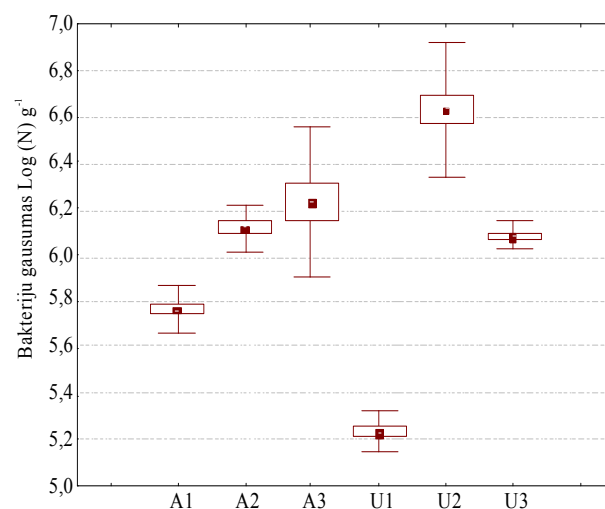
Tyrimų rezultatai ir aptarimas. Gyvai ląstelė būdinga gintis nuo išorinių cheminių medžiagų jas akumuliuojant, segreguojant arba skaidant fermentais atitinkamose ląstelės dalyse. Dėl tokių savybių mikroorganizmų ląstelė gali funkcionuoti smarkiai pakitusioje aplinkoje, trūkstant kai kurių mitybinių medžiagų arba esant aplinkoje įvairiausių teršalų. Vandens ekosistemoje nuolat vyksta intensyvūs įvairių mikroorganizmų biodegradacijos procesai. Jų eigą lemia du pagrindiniai veiksniai – mikroorganizmas-biodegradatorius ir substratas, kuriame funkcionuoja pirmasis. Kuo lengviau mikroorganizmas įsisavina substrate esančias medžiagas, tuo intensyviau vyksta degradacija. Naftos angliavandenilius vandens gyvūnų virškinimo sistemos bakterijos naudoja kaip vienintelį anglies šaltinį (Koronelli, 1996; Šyvokienė, Mickėnienė, 2004; Kalėdienė, 2009).

Gautų duomenų pagrindu lyginant *A. cygnea* ir *U. tumidus* moliuskų bakteriofloros struktūras, nustatyti

atskirų autochtoninių funkcinė grupių bakterijų gausos skirtumai. *A. cygnea* moliuskų iš avandeltos virškinimo sistemos bakterijų gausumo vertės buvo didesnės negu *U. tumidus* organizmų.



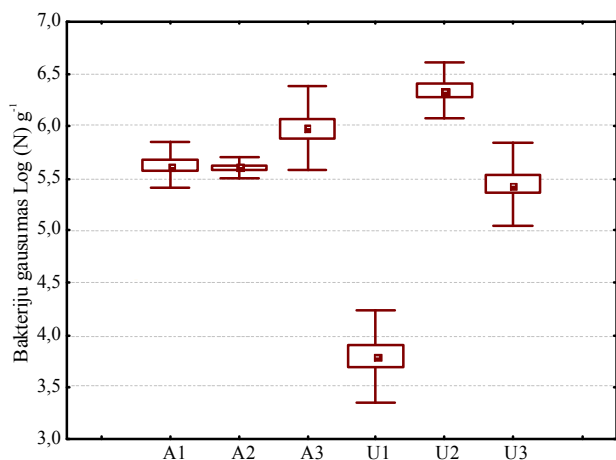
1 pav. Bendrų heterotrofinių bakterijų gausa (logaritmuotas, vidurkis, standartinė paklaida ir 95 proc. pasikliautinis intervalas) moliuskų *A. cygnea* (A) ir *U. tumidus* (U) virškinimo sistemoje



2 pav. Proteolitinių bakterijų gausa

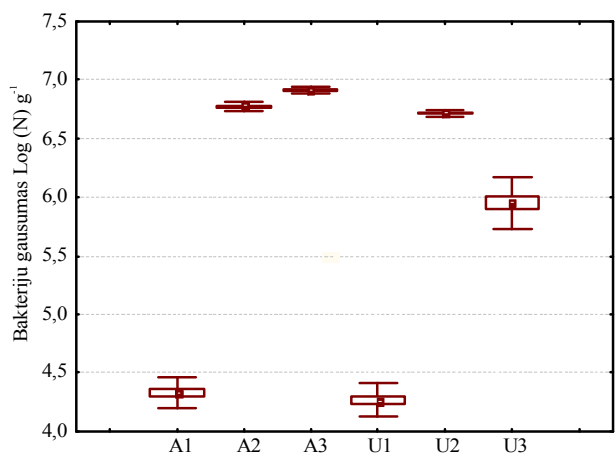
Tirtų dvigeldžių moliuskų *A. cygnea* ir *U. tumidus* virškinimo sistemoje, be autochtoninių funkcinė grupių bakterijų (bendrų heterotrofinių, proteolitinių, amilolitinių), nustatytos angliavandenilius skaidančios ir žarnyno grupės bakterijos, kurių gausumo vertės svyruoja, yra skirtingos atskirų rūšių individuose (1–5 pav). Bendrų heterotrofinių bakterijų gausumo vertės *A. cygnea* svyravo nuo 15,87 proc. iki 42,16 proc.; *U. tumidus* – nuo 16,7 proc. iki 31,3 proc., proteolitinių bakterijų – atitinkamai: 13,24–31,35; 31,01–37,15 proc. ir amilolitinių bakterijų – atitinkamai 4,03–22,7 proc.; 0,74–15,71 proc. (1, 2, 3 pav.). Daugiausia proteolitinių, bendrų heterotrofinių ir amilolitinių bakterijų rasta *U. tumidus* iš Atmatos, o *A. cygnea* – iš Aklo upelio. Ankstesnių

tyrimų bakterinės analizės duomenys rodo, kad moliuskuose bakterijų gausa gali smarkiai svyruoti priklausomai nuo mitybinių substratų (Шивокене, 1989; Jankauskienė ir kt., 1999).



3 pav. Amilolitinių bakterijų gausa

Didelis kiekis tirtų angliavandenilius skaidančių bakterijų, tirtų moliuskų virškinimo sistemoje, rodo galimą aplinkos užterštumą nafta ir jos produktais. R. Žaromskio (1996, 1999) duomenimis, nafta ir jos produktai akumuliuojasi dugno nuosėdose. Daugiausia angliavandenilius skaidančių bakterijų rasta *A. cygnea* moliuskų, sugautų Atmatoje ir Aklame upelyje, o *U. tumidus* – Atmatoje, virškinimo sistemoje (4 pav.).



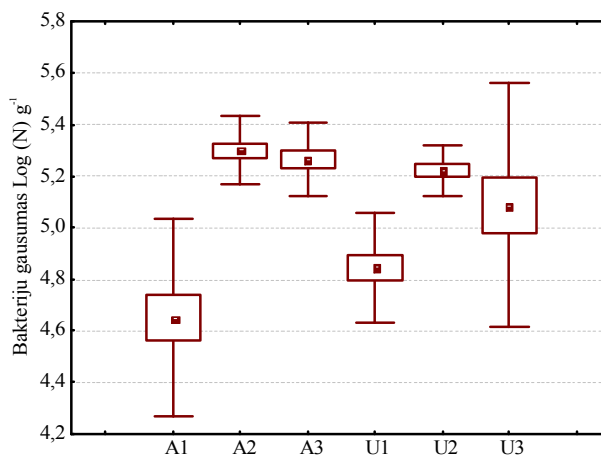
4 pav. Angliavandenilius skaidančių bakterijų gausa

Nafta užterštoje aplinkoje didelę dalį vietinės bakterijų populiacijos sudaro naftos angliavandenilius skaidančios bakterijos. Vietovėse, kur nutinka naftos ar jos produktų išsiliejimo avarijos, vietinės bakterijos, veikiamos daugybės naftos angliavandenilių, dėl chemotaksio užleidžia vietą naftą skaidančioms bakterijų rūšims (Korda et al., 1997). Paprastai užterštų vietų bakterijų įvairovė mažesnė nei neužterštų. Tokiose ekosistemose dažniausiai vyrauja gramneigiamos bakterijos (Kanaly, Harayama, 2000). Chemotaksis yra selektyvus privalumas

degraduojančioms bakterijoms užimti atitinkamas užterštas vietas (Pandey, Jain, 2002).

1998–2001 metų tyrimais nustatyta, kad angliavandenilius skaidančių bakterijų populiacija žuvų, sugautų Kuršių mariose, virškinamajame trakte sudarė 0,05–66,67 proc. bendrų heterotrofinių bakterijų (Voverienė, 2002). Kitų mokslininkų duomenimis, šių bakterijų populiacija dirvožemio bakteriocenozeje gali sudaryti nuo 0,13 proc. iki 50 proc., jūrinėse ekosistemose – nuo 0,003 proc. iki 100 proc. (Leahy, Colwell, 1990). Mūsų tyrimais nustatyta, kad angliavandenilius skaidančios bakterijos moliuskuose, surinktuose tirtose stotyse, svyravo nuo 0,9 proc. iki 64,3 proc. Manytina, kad vandens gyvūnai per virškinimo sistemos mikroorganizmus dalyvauja vandens ekosistemų apšvalymo nuo naftos ir naftos angliavandenilių procese.

Žarnyno grupės bakterijos nėra tiesiogiai fekalinio užterštumo biožymenos, nes jų padaugėja ir esant vandenyje daug organikos, pvz., kai žūsta dumbliai. Tačiau didelis šių bakterijų kiekis gali rodyti užterštumą buitinais nutekamaisiais vandenimis (Šyvokienė et al., 2008a; Šyvokienė, Mickėnienė, 2008b). Daugiausia bendrų žarnyno grupės bakterijų (5 pav.), kaip ir angliavandenilius skaidančių (4 pav.), nustatyta moliuskų *A. cygnea* ir *U. tumidus*, sugautų Atmatoje ir Aklame upelyje, virškinimo sistemoje (nuo 2,2 proc. iki 4,33 proc.). Mažiausiai jų rasta *A. cygnea* ir *U. tumidus* moliuskų, surinktų avandeltose, virškinimo sistemos bakteriofloroje (nuo 1,48 proc. iki 2,7 proc.). Lyginant bakteriologinius duomenis, gautus tiriant minėtas moliuskų rūšis ežeruose, ženkliai didesnis kiekis angliavandenilius skaidančių bakterijų moliuskų virškinimo sistemoje nustatyta iš avandeltos, Atmatos ir Aklo upelio. Didžiausia tarša naftos produktais atkeliauja su Nemuno vandenimis – 80 proc. visų naftos produktų, per metus patenkančių į Kuršių marias (Žaromskis, 1996).



5 pav. Bendrų žarnyno grupės bakterijų gausa

Ksenobiotikai gali inhibuoti bakterinį aktyvumą ir neigiamai veikti šeiminių asimiliacijos efektyvumą bei adaptacines galimybes. Tyrimai parodė, kad vandens ir žuvų virškinamojo trakto bakteriofloros gyvybinė veikla priklauso nuo aplinkos ekologinės būklės. Veikiama antropogeninių teršalų, keičiasi ne tik vandens, bet ir žuvų

žarnyne vyraujančių bakterijų sudėtis bei fermentinė veikla (Skrodenytė, 1997; Šyvokienė, Mickėnienė, 2004).

Apibendrinant gautus duomenis galima konstatuoti, kad tyrimų metu nustatyti dvigeldžių moliuskų virškinimo sistemoje esančių bakteriofloros pusiausvyros pokyčiai dėl gausaus išsivyravusių angliavandenilius skaidančių bakterijų kiekio (ypač *A. cygnea*, sugautų Atmatoje ir Aklame upelyje bei *U. tumidus*, sugautų Atmatoje) virškinimo sistemoje, rodo galimą aplinkos užterštumą nafta ir jos produktais.

Taršos biologinių efektų metodologija diegiama vis aktyviau, ir gauti rezultatai duoda kokybiškai naujos informacijos vertinant antropogeninės veiklos pasekmes (Lehtonen et al., 2006).

Išvados.

1. Lyginant *A. cygnea* ir *U. tumidus* moliuskų bakteriocenozių struktūras, nustatyti atskirų autochtoninių funkcinė grupių bakterijų gausos skirtumai. *A. cygnea* iš Nemuno avandeltos virškinimo sistemos bendras tirtų ir atskirų funkcinė grupių bakterijų kiekio vertės buvo didesnės negu *U. tumidus* organizmuose.

2. Didžiausios bendrų heterotrofinių, proteolitinių ir amilolitinių bakterijų, atliekančių svarbų vaidmenį moliuskų maisto virškinime bakterijų fermentais, gausumo vertės nustatytos *U. tumidus* iš Atmatos ir *A. cygnea* iš Aklo upelio.

3. Nustatyti tirtų dvigeldžių moliuskų *A. cygnea* ir *U. tumidus* virškinimo sistemoje esančios bakteriofloros pusiausvyros pokyčiai dėl išsivyravusių angliavandenilius skaidančių bakterijų. Moliuskai, surinkti Atmatoje ir Aklame upelyje, rodo galimą aplinkos užterštumą nafta ir jos produktais. Angliavandenilius skaidančių bakterijų moliuskuose, surinktuose tirtose stotyse, svyravo nuo 0,9 proc. iki 64,3 proc.

4. Daugiausia bendrų žarnyno grupės bakterijų rasta moliuskų *A. cygnea* ir *U. tumidus*, sugautų Atmatoje ir Aklame upelyje virškinimo sistemoje (jų gausumo vertė svyravo nuo 1,2 proc. iki 4,33 proc.). Mažiausiai šių bakterijų nustatyta *A. cygnea* ir *U. tumidus*, surinktų avandeltose, virškinimo sistemos bakteriofloroje. Šių bakterijų gausa gali rodyti užterštumą buitiniiais nutekamaisiais vandenimis.

Padėka. Nuoširdžiai dėkoju Vilniaus universiteto Gamtos fakulteto profesorei Anoldai Četkauskaitėi, Gamtos tyrimų centro, Ekologijos instituto vyresniajai mokslinei darbuotojai dr. Lionginai Mickėnienėi, padėjusioms atlikti darbą, vyresniesiems mokslo darbuotojams dr. Gintarui Svecevičiui ir dr. Aleksandrui Rybakovui už pristatytą tiriamąją medžiagą ir konsultacijas.

Literatūra

1. Atlas R. M., Bartha R. Microbial ecology: fundamentals and applications. Cummings Science Publishing. 1998. 694 p.

2. Clements K. D. Fermentation and gastrointestinal microorganisms in fishes. Gastrointestinal ecosystems and fermentations. R. I. Mackie and B. A. White (ed.).

N. Y.: Chapman and Hall. 1997. P. 156–198.

3. Četkauskaitė A., Baršienė J., Vosylienė., Svecevičius G., Šyvokienė J., Lekevičius R., Petrauskienė L., Paškauskas R., Beržinskienė J., Mickėnienė L., Bučinskienė R. Toxicity of Sediments and Water of the Kuronian Lagoon and the Lower Reaches of the Nemunas River. Pages 12–26 In: *Modeling Nutrient Loads and Response in River and Estuary Systems*. Report No. 271. R.C. Russo (ed), Committee on the Challenges of Modern Society, North Atlantic Treaty Organization. Brussels/Nederland. 2005. P. 12–25.

4. D'Annibale A., Rosetto F., Leonardi V., Federici F., Petruccioli A. Role of Autochthonous Filamentous Fungi in Bioremediation of a Soil Historically Contaminated with Aromatic Hydrocarbons, Applied and Environmental Microbiology. 2006. V. 72 (1). P. 28–36.

5. Gallego J. R., Loredó J., Llamas J. F., Vazquez F., Sanchez J. Bioremediation of diesel-contaminated soils: evaluation of potential *in situ* techniques by study of bacterial degradation, Biodegradation. 2001. V. 12. P. 325–335.

6. Jankauskienė R., Šyvokienė J., Mickėnienė L. Naftos angliavandenilių poveikis Kuršių marių aukštesniųjų vėžiagyvių ir žuvų mailiaus virškinamojo trakto bakteriocenozei. Ekologija. 1999. T. 2. P. 71–79.

7. Kalėdienė L. Grunto bioremediacijos mikrobiologiniai tyrimai. Habilitacijos procedūrai teikiamų mokslo darbų apžvalga. Vilnius. 2009. 41 p.

8. Kanaly R. A., Harayama, S. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. Journal Bacteriolog. 2000. V.182. P. 2059–2067.

9. Korda A., Santas P., Tenente A., Santos R. Petroleum Hydrocarbon bioremediation: sampling and analytical techniques, *in situ* treatments. Appl Microbiol Biotechnol. 1997. V. 48. P. 677–686.

10. Koronelli T. V., Nesterova E. D. Ecological strategies of bacteria utilizing hydrophobic substrats. Mikrobiologija. 1990. V. 59 (6). P. 993–997. V. 54 (3). P. 305–315.

11. Koronelli T. V. Principles and methods for raising efficiency biological degradation, Prikladnaja biochimija i mikrobiologija. 1996. V. 32. P. 579–585.

12. Leahy J. G., Colwell R. R. Microbial degradation of hydrobionts in the environment. Microbiological Reviews. 1990. V. 54 (3). P. 305–315.

13. Lehtonen K., Kohler A., Lang T., Vourinen P., Forlin L., Baršienė J., Pempkowiak J., Gercken J. The BEEP project in the Baltic Sea: Overview of results and outline for a regional biological effects monitoring strategy. Marine Pollution Bulletin. 2006. V. 53. P. 523–537.

14. Löser C., Seide H., Hoffman P., Zehnsdorf A. Bioavailability of hydrocarbons during microbial remediation of a sandy soil. *Applied Microbiol Biotechnology*. 1999. V. 51. P. 105–111.
15. Morgan P., Wabhinson R. J. Hydrocarbon degradation in soil and methods for soil biotreatment. *Cruti Rev Biotechnol*. 1989. V. 8 (4). P. 305–328.
16. Pandey G., Jain R. K. Chemotaxis toward Environmental Pollutants: Role in Bioremediation. *Applied Environmental Microbiology*. 2002. P. 5789–5795.
17. Prince R. C. The microbiology of marine oil spill bioremediation. Olivier B.; Magot M. (ed). *Petroleum Microbiology*. ASM Press. 2005. 317 p.
18. Richard J. Y., Vogel T. M. Characterization of a soil bacterial consortium capable of degrading diesel fuel. *Int Biodet Biod*. 1999. V. 44. P. 93–100.
19. Ringø E., Olsen R. E. The effect of diet on aerobic bacterial flora associated with intestinal of arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Journal of Applied Microbiology*. 1999. V. 86. P. 22–28.
20. Roffey R. Microbial problems during long-term storage petroleum products underground in cock caverns. *International biodegradation*. 1989. V. 25 (1–3). P. 243–248.
21. Sakalauskas V. Duomenų analizė su STATISTICA Vilnius: Margi raštai, 2003. P. 83–148.
22. Sakata T. Microflora of healthy animals. Austin B.; Austin D. A. (ed.) *Methods for microbiological examination of fish and shellfish*. New York, London. Elsevier Amsterdam. 1989. P. 141–163.
23. Skrodenytė V. Dependence on environmental pollution of bacterioflora found in water and fish digestive tract, and their enzymatic activity. *Doctoral Dissertation Summary*. Vilnius. 1997. 36 p.
24. Šyvokienė J., Mickėnienė L. Drūkšių ežero moliuskų žarnyno bakteriocenozė ypatumai. *Ekologija*. 2000. Nr. 2. P. 20–26.
25. Šyvokienė J., Mickėnienė L. Impact of Crude Oil Bacteriogenesis of the Digestive Tract of Mollusks. *Environmental toxicology*. 2004. V. 19 (4). P. 421–424.
26. Šyvokienė J., Mickėnienė L., Voverienė G. Hydrocarbon-degrading bacteria in the digestive tract of hydrobionts. *Journal of Environmental Micropaleontology, Microbiology and Meiobenthology*. 2004. V. 1. P. 48–60.
27. Šyvokienė J., Mickėnienė L., Jankauskienė R., Hydrocarbon-degrading bacteria in the bacteriogenesis of Crustaceans and Fish. *Journal of Environmental Micropaleontology, Microbiology and Meiobenthology*. 2005. V. 2. P. 101–111.
28. Šyvokienė J., Mickėnienė L., Baršienė J. Bacteria in the digestive system of molluscs from Lithuanian lakes. *Ekologija*. 2008a. V. 54 (4). P. 271–277.
29. Šyvokienė J., Mickėnienė L. Hydrocarbon-degrading bacteria in the intestinal tract of fish from the Baltic Sea. The Fifth International Conference „Environmental Micropaleontology, Microbiology and Meiobenthology“. Conference Materials. Chennai (India). 2008b. P. 323–326.
30. Šyvokienė J., Mickėnienė L., Voverienė G. Moliuskų virškinamojo trakto bakteriocenozės kaip taršos bioindikatoriai. *Ekologija*. 1999. T. 3. P. 95–98.
31. Štukova Z., Sanitary Water Conditions in the Curonian Lagoon and the Baltic Coastal Area of Lithuania. *Environmental research, engineering and management*. 2006. V. 2 (36). P. 11–16.
32. Voverienė G., Mickėnienė L., Šyvokienė J. Hydrocarbon-degrading bacteria in the digestive tract of fish, their abundance, species composition and activity. *Acta Zoologica Lituanica*. 2002. V. 12 (3). P. 333–340.
33. Voverienė G. Angliavandenilius skaidančios bakterijos žuvų virškinamajame trakte: Daktaro disertacijos santrauka. Vilnius. 2002. 54 p.
34. Zdanavičiūtė O. Lietuvos nafta. Vilnius. 1998.
35. Žaromskis R. Naftos terminalų nustatymas juos supančioms akvatorijoms. *Geografija*. 1999. V. (1). P. 87–90.
36. Žaromskis R. Okeanai, Jūros, Estuarijos. Vilnius. 1996. 293 p.
37. Кузьмина В.В. Физиолого-биохимические основы элзотрофии рыб. Москва: Наука. 2005. 300 с.
38. Кузнецов С., Дубинина Г. Методы изучения водных микроорганизмов. Москва: Наука. 1989. 295 с.
39. Миронов О., Миловидова Н., Щекатурина Т. О передаче углеводов по пищевой цепи. Киев: Наукова Думка. 1988. 248 с.
40. Шивокене, Я. Симбионтное пищеварение у гидробионтов и насекомых. Вильнюс: Мокслас. 1989. 222 с.

Gauta 2010 08 11

Priimta publikuoti 2010 10 29