

КАЧЕСТВЕННАЯ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОПЛАНКТОНА ВОДОЕМОВ ПУСТЫНСКОГО ЗАКАЗНИКА

Г. Н. Ладыгина, А. И. Речкин, И. А. Коледаева
Нижегородский госуниверситет

Изучен видовой состав и оценена относительная численность бактерий и сапрофитов в водоемах. Выявлены бактерии-индикаторы процессов интенсивной эвтрофикации, а также индикаторы фекального загрязнения. Установлена динамика численности и истощения биоразнообразия видов, связанная с антропогенной нагрузкой на водоемы.

Проблема охраны и рационального использования водных ресурсов привлекает к себе все более пристальное внимание специалистов самых различных областей. Биопродуктивность водоемов и качество воды в значительной мере определяется структурой и функционированием водной экосистемы. Существенную роль в жизни водоемов играют микроорганизмы, которые занимают ведущее место в процессах самоочищения, путем минерализации органических веществ обогащают воду биогенными элементами, обладая большой скоростью размножения, могут быстро увеличивать свою биомассу. Эти и некоторые другие свойства микроорганизмов позволяют рассматривать их как высокочувствительные биологические индикаторы состояния природной среды, в том числе и водной.

Объектом для настоящих исследований были выбраны озера Великое, Свято, протока между ними, залив Некрасова и р. Сережа Пустынского заказника Нижегородской области. Отбор материала осуществляли в июне – июле 1997 г. на 7 станциях. Первым этапом исследований была оценка численности мезофильных гетеротрофных аэробных и анаэробных бактерий (ОМЧ). Для этого пробы воды высевали на МПА глубинным методом. После инкубирования проводили учет результатов путем подсчета колоний, выросших на поверхности и в толще питательной среды.

Полученные результаты показали, что количество бактерий в поверхностном слое водоемов колебалось в пределах от 10 до 7560 кл/мл. Наименьшая численность отмечена на р. Сереже, что вполне закономерно, учитывая факт проточности и отсутствия существенного антропогенного воздействия, т. к. река вытекает из лесного массива. Также меньшие количества бактерий по сравнению с другими водоемами отмечены в оз. Свято, что также объясняется отсутствием выраженного воздействия человеческого фактора. В остальных станциях численность бактерий очень высока, что объясняется влиянием разных факторов. В пробах воды деревенского пляжа на оз. Великом и у моста через протоку на оз. Свято высокая численность микроорганизмов, несомненно, связана с воздействием разнообразной хозяйственно-бытовой деятельности человека, частым посещением водоемов сельскохозяйственными и домашними животными, в результате чего в водоеме высок не только процент поверхностно-активных веществ, но и углеводов, которые способствуют смене микробных ассоциаций, истощению автохтонной микрофлоры. Известно (Кочемасова и др., 1987), что только после купания одного

человека в воде в течение 10 минут обнаруживается около 3 млрд. сапрофитов и от 100 тыс. до 20 млн. эшерихий. Обилие микроорганизмов в заливе Некрасова и за островом Солило на оз. Великом объясняется содержанием в водоеме большого количества растительного опада, стимулирующего развитие целлюлозоразрушающих, азотфиксирующих бактерий и представителей семейства *Bacillaceae*.

Нельзя не отметить тот факт, что количество бактерий в толще воды (на глубине 2 м) значительно превышает их количество на поверхности, то есть численность бактерий в слое температурного скачка превышает таковую в эпилимнионе. Распределение бактерий по вертикали зависит от типа водоема, не подчиняется определенным закономерностям и незначительно колеблется, поскольку вода легко поддается перемещениям под влиянием течения, ветров, конвекционных токов (Вербина, 1980). Однако данный факт можно объяснить тем, что в открытой части озер выражена температурная стратификация, сохраняющаяся в течение всего теплого периода, вплоть до осеннего перемешивания. Образованию термоклины способствуют слабая проточность и защищенность озера лесами от ветрового перемешивания. Из-за повышенной плотности воды в этом слое задерживаются мелкие частицы детрита, оседающие обычно с очень низкой скоростью. Присутствие органического субстрата создает благоприятные условия для роста бактерий (Садчиков и др., 1982).

Анализ динамики численности бактерий в течение месяца исследований по различным водоемам и отдельным станциям позволил выявить следующую закономерность: максимум микробного числа приходился на конец июня (25.06–29.06), меньшие максимумы роста наблюдались в середине месяцев (12.06–16.06 и 11.07–15.07), а минимальный уровень микробного числа приходился на 20.06 и 3.07.

По всем станциям отбора проб прослеживалась и другая закономерность: колебания численности в толще водоемов имели гораздо большие амплитуды, чем колебания численности на поверхности водоемов.

Полученные результаты о колебаниях численности микроорганизмов объясняются характером взаимоотношений, которые существуют между эукариотами и прокариотами водной среды. Эти взаимоотношения могут быть основаны на трофических и метаболических связях, обуславливающих как симбиоз, так и антагонизм. Известно, что представители фитопланктона, такие как синезеленые водоросли, выделяют токсичные для многих бактерий вещества (Глаголева и др., 1992).

На динамику количества бактерий, кроме автохтонных, образующихся непосредственно в водоеме, возможно влияние аллохтонных веществ, попадающих в водоемы извне (Вербина, 1984). Кроме веществ природного происхождения (древесина, листва, смывы с почв), это могут быть вещества антропогенной природы, так как по берегам озер расположены биостанция университета, пляж, туристические стоянки, сельскохозяйственные угодья, на которых возможно применение удобрений, территория заказника вдоль протоки с оз. Великого на оз. Свято, используемая местными жителями для выпаса скота.

На втором этапе исследований проводили идентификацию выделенных с МПА культур (всего 436) гетеротрофных микроорганизмов. Выявлено 8 семейств, 16 родов, к которым относились 36 штаммов выделенных видов бактерий.

Анализируя видовой состав бактерий водоемов, необходимо указать на преобладание бесспорных форм (52% от всех микроорганизмов) над спорообразующими (48%), палочковидных бактерий (92% от всех микроорганизмов) над кокко-

выми (8%). Известно (Вербина 1980), что в загрязненных водах преобладают палочковидные бактерии (80% и более), удельный вес кокковых форм резко падает (10% и менее); а преобладание бесспорных форм над спорообразующими говорит об усиленном процессе эвтрофикации (Кузнецов, Дубинина, 1987; Теплинская, 1995). Таким образом, исследуемые водоемы можно назвать загрязненными, с интенсивно идущими процессами эвтрофикации. Нельзя не отметить, что преобладающей группой бактерий во всех исследованных водоемах были представители рода *Bacillus* (42% от всех выделенных микроорганизмов). Следовательно, в течение всего исследуемого периода в водоемах интенсивно шли процессы аммонификации (разрушение азотсодержащих органических соединений – белков) и денитрификации (диссимилиация нитрата до NO_2^- и NH_4^+) (Громов, Павленко, 1989; Михайленко и др., 1991).

Особенно активно в процессе аммонификации участвовала *Bacillus subtilis* (сенная палочка), которая была выделена из воды всех исследованных станций. Кроме этого, по данным Г. Н. Олейник (1991), *Bacillus subtilis* указывает на наличие большого количества пектиновых веществ в водоемах, которые интенсивно расщепляются до углекислоты и воды.

В процессе денитрификации (редукция нитратов до газообразного азота) активно участвует *Bacillus licheniformis*, которая также была выделена из воды всех исследованных водоемов. Необходимо отметить тот факт, что сама по себе *B. licheniformis* безвредна, однако она создает благоприятные условия для развития и жизнедеятельности *Clostridium botulinum*; при условии, что эта вода будет использоваться при домашнем консервировании, есть вероятность вспышки ботулизма (Громов, Павленко, 1989).

В процессе исследования были выделены микроорганизмы – индикаторы состояния окружающей среды (см. табл.).

Таблица

Список индикаторных видов бактерий, выделенных из водоемов Пустынского заказника

Виды бактерий	Индикаторная значимость
<i>Bacillus subtilis</i>	Свидетельствует о наличии больших количеств пектиновых веществ
<i>Bacillus cereus</i> , <i>Pseudomonas putida</i>	Указывают на возможность накопления в водоемах соединений хрома
<i>Bacillus polymyxa</i>	Является индикатором на присутствие больших концентраций соединений окисного железа
<i>Bacillus megaterium</i>	Индикатор на активно протекающий процесс минерализации органических фосфатов, который способствует интенсивной эвтрофикации водоема
<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	Является индикатором на определенные концентрации форм растворенного азота
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Участвует в образовании сероводорода в водоемах
<i>Mycobacterium phlei</i>	Указывает на возможность наличия в воде алифатических углеводов и нефтепродуктов
<i>Mycobacterium globiforme</i>	Предполагает присутствие в среде стероидных соединений определенных концентраций
<i>Azotobacter chroococcum</i>	Индикатор на наличие в водоеме больших количеств гуминовых веществ
<i>Sporosarcina ureae</i>	Индикатор на присутствие в воде больших концентраций мочевины
<i>Cytophaga hutchinsonii</i>	Свидетельствует о наличии в водоеме определенных количеств целлюлозы и нитратов

Особым этапом работы был поиск санитарно-значимых и патогенных микроорганизмов. Результаты санитарно-бактериологического анализа воды выявили известную (Feresu, Van Sickle, 1990; Теплинская и др., 1993) закономерность: большее количество бактерий группы кишечной палочки (БГКП) было обнаружено на участках акватории вблизи берега, куда поступают с суши различного рода стоки и несомненно влияние хозяйственной деятельности человека. Число БГКП в воде характеризует степень загрязнения ее и, следовательно, вероятность кишечных инфекций (Яфаев, Зуева, 1992; Howland, 1995).

Из всех бактерий, входящих в состав БГКП, наибольшее санитарно-показательное значение имеют микроорганизмы рода *Escherichia* (Пшеничнов и др., 1993). *Escherichia coli* выделялась в течение всего исследуемого периода из воды всех семи станций. Особенно много ее было выделено из проб воды деревенского пляжа и у моста через протоку на оз. Свято, что, несомненно, объясняется скоплением здесь людей, домашних и сельскохозяйственных животных. В этих же водоемах особенно часто выявлялись различные виды рода *Enterobacter*, что еще раз подтверждает загрязненность этих водоемов фекалиями. Бактерии родов *Escherichia* и *Enterobacter* являются основными санитарно-показательными микроорганизмами для оценки различных сред обитания (Бей и др., 1993). К вспомогательным санитарно-показательным микроорганизмам относятся представители рода *Proteus*. Имеется прямая зависимость между содержанием протей и кишечной палочки в водоемах. *Proteus mirabilis* и *P. vulgaris* выделялись повсеместно, но *P. vulgaris* был характерен для водоемов, где отсутствует влияние антропогенного фактора, а *P. mirabilis* выявлялся в водах, для которых характерно активное антропогенное воздействие. Подобная закономерность объясняется тем, что *P. vulgaris* относится к группе гнилостных микроорганизмов, указывающих на загрязнение воды легко загнивающими органическими веществами (Вербина, 1980; Кожевин, 1989). Обнаружение же в водоеме другого вида протей – *P. mirabilis*, являющегося обитателем кишечника человека и животных, свидетельствует о загрязнении воды фекально-бытовыми стоками. Некоторые авторы (Кузнецов, Дубинина, 1989) дают иное объяснение обнаружению энтеробактерий в озерной воде, хотя не исключают возможности фекального загрязнения. Они считают, что энтеробактерии могут развиваться за счет растворенных органических веществ, образующихся при распаде водной растительности.

Предпринята попытка выявления популяций патогенных микроорганизмов, циркулирующих в исследуемых водоемах. Из проб воды деревенского пляжа и середины оз. Великого были выявлены штаммы бактерий, относящихся к роду *Salmonella*, а в воде середины оз. Великого были обнаружены еще и штаммы бактерий, относящиеся к роду *Klebsiella*. Данный факт свидетельствует о возможной циркуляции патогенных микроорганизмов этих родов в Пустыньском заказнике, что подтверждается ранее проведенными исследованиями А. И. Речкина (1997), показавшими участие мелких грызунов в распространении этих микроорганизмов.

В 1993 г. на кафедре молекулярной биологии и иммунологии биологического факультета ННГУ проводились исследования бактериопланктона на озерах Великом и Свято. Для изучения динамики развития экосистемы озер мы провели сравнение полученных нами результатов с результатами работы 1993 г.

Несомненно, возросла общая численность бактерий. В 1993 г. в оз. Великом она в среднем составляла 204 кл/мл, а в оз. Свято – 185 кл/мл. Как было показано исследованиями 1997 г., средняя общая численность бактерий в оз. Великом возросла до 1232 кл/мл, а в оз. Свято – до 1059 кл/мл.

Увеличение численности бактерий, вероятно, связано с возрастанием концентрации биогенных элементов. Решающую роль в увеличении численности бактерий сыграло постоянно и интенсивно увеличивающееся антропогенное воздействие: использование моторного флота на озерах, что запрещено в заказнике; все большее посещение озер туристами и т. п. Все это ведет к загрязнению озер органикой, и, следовательно, к эвтрофированию водоемов. Возрастание численности бактерий с увеличением трофности водоема – известная закономерность.

В 1993 г. в озерах были выявлены представители родов *Nitrobacter*, *Nitrosomonas*, *Spirillum*, *Dactylosporangium*, *Cellulomonas*. В наших исследованиях эти микроорганизмы – индикаторы чистоты водоемов, обнаружены не были. Наоборот, были выявлены представители рода *Mycobacterium*, свидетельствующие о появлении и интенсивном распространении в воде углеводов и нефтепродуктов.

Повсеместно выделено большое количество санитарно-показательных микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*, родов *Escherichia*, *Enterobacter*, *Proteus* и *Citrobacter*, в то время как в 1993 г. были выделены только представители рода *Escherichia* в единичных количествах и лишь в конце июля. Таким образом, наши данные свидетельствуют об интенсивном загрязнении вод.

ЛИТЕРАТУРА

Бей Т. В., Волошенко О. И., Прокопов В. А., Шмаргун Л. М. Эколого-гигиеническая оценка качества воды Дуная на участке Вена – Вилково по санитарно-бактериологическим показателям // Водные ресурсы. 1993. Т. 20. Вып. 4. С. 490-493.

Вербина Н. М. Гидробиология с основами общей микробиологии: Учеб. пособие. М., 1980.

Вербина Н. М. Исследование микрофлоры озер СССР // Экологические аспекты водной микробиологии: Сб. статей. Новосибирск, 1984. С. 45-49.

Глаголева О. П., Зенова Г. М., Звягинцева А. Г. Особенности функционирования водорослей в ассоциации с бактериями // Микробиология. 1992. Т. 61. Вып. 2. С. 256-261.

Громов В. В., Павленко Г. В. Экология бактерий: Учеб. пособие. Л., 1989.

Кожевин П. А. Микробные популяции в природе. М., 1989.

Кочемасова З. Н., Ефремова С. А., Рыбакова А. М. Санитарная микробиология и вирусология: Учеб. пособие. М., 1987.

Кузнецов С. И., Дубинина Г. А. Микробиологическое изучение внутренних водоемов. М., 1987.

Кузнецов С. И., Дубинина Г. А. Методы изучения водных микроорганизмов. М., 1989.

Михайленко Л. Е., Якушин В. М., Коднер Э. И. Бактериопланктон и его структурно-функциональные характеристики в реке Дунай // АН УССР. Математика, естествознание, технические науки. 1991. Вып. 1. С.137-140.

Олейник Г. Н. Бактериальная деструкция органического вещества в водоемах и водотоках // Водные ресурсы. 1991. Вып. 2. С. 89-97.

Пищеничов Р. А., Колотов В. М., Слепов А. М. Пространственно-временной мониторинг природных популяций *E. coli* в водных средах // Экологические проблемы бассейнов крупных рек: Тезисы междунар. конф. Тольятти, 1993. С. 261-262.

Речкин А. И. Мелкие млекопитающие – участники циркуляции возбудителей сапронозов на урбанизированных территориях: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Н. Новгород, 1997.

Садчиков А. П., Филиппова Т. Г., Куликов А. С. Влияние фитопланктонного сообщества на численность и продукцию бактерий пелагиали озера Глубокого // Микробиол. журн. 1982. Т. 44. Вып. 1. С. 28-34.

Теплинская Н. Г. Тенденции изменений качественного состава сапрофитного бакте-

риопланктона и бентоса северо-западной части Черного моря под влиянием эвтрофирования // Итоги науки и техники. Сер. Микробиология. М., 1995. Т. 31. С. 12-19.

Теплинская Н. Г., Нижегородова Л. Е., Нидзвецкая Л. М. Численность и распределение сапрофитных бактерий и бактерий ГКП в воде Одесского залива и сопредельной акватории // Микробиол. журн. 1993. Т. 55. Вып. 3. С. 7-11.

Яфаев Р. Х., Зуева Я. П. Экология условно-патогенных микроорганизмов // Моск. НИИ эпидемиол. и микробиол. Вып. 6. Мед. аспекты микроб. экологии. М., 1992. С. 15-17.

Feresu S.B., Van Sickle J. Coliforms as a measure of sewage contamination of River Zambezi // J. Appl. Bacteriol. 1990. V. 68, № 4. P. 397 – 403.

Howland A. G. Fecal coliforms as an indicator of water quality of the Rogue River, Michigan // Mich. Acad. 1995. V. 27, № 3. P. 384.