

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ИНДИКАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ

Настоящая работа посвящена микробиологическим исследованиям важнейших водотоков Псковской области Великой и Ловати. В качестве биоиндикаторов качества природной воды рассмотрены морфологические и структурные показатели бактериопланктона. Выявлено присутствие в воде тионовых и нитрифицирующих бактерий, проведено сравнение бактериальной загрязнённости рек Великая и Ловать.

Ключевые слова: биоиндикация, бактериопланктон, тионовые бактерии, нитрифицирующие бактерии.

Существование человечества немыслимо без жизненно важных природных ресурсов, одним из которых является вода. Вода обладает рядом уникальных свойств, необходимых для поддержания всех форм жизни на земле, поэтому проблема сохранения водных ресурсов в настоящее время особенно актуальна. Для обеспечения коммунального и промышленного водоснабжения во всём мире расходуется почти 600 км^3 пресной воды. Из них только 150 км^3 воды расходуется безвозвратно, а остальная, загрязнённая сточная вода поступает обратно в реки и водоёмы, отравляя их, делая непригодными для человека и жизни. На обезвреживание загрязнённых промышленных и бытовых сточных вод используется почти 40 % всего устойчивого мирового стока пресной воды [8].

Биоиндикация — оценка качества среды обитания и её отдельных характеристик по состоянию биоты в природных условиях. В качестве биоиндикаторов в водных объектах часто выступают сообщества бактерио-, фито-, зоопланктона, зообентоса, перифитона [7]. В наиболее простой форме биоценотическая индикация загрязнения сводится к сравнению видового богатства, разнообразия, численности и биомассы населения в загрязнённой и контрольной зонах [4].

Процессы круговорота органического вещества и биогенных элементов, происходящие в водоёмах, обусловлены в значительной степени жизнедеятельностью микроорганизмов. Редуцируя органическое вещество, микроорганизмы участвуют в процессах самоочищения водоёмов. В природных водоёмах они способны разрушать органические соединения естественного происхождения (белки, целлюлозу, гумусовые соединения, фенолы и др.), а также некоторые вещества антропогенного происхождения (ПАВ, полимеры, нефтепродукты). В случае антропогенного загрязнения водного объекта вода обогащается специфическими эколого-трофическими группами микроорганизмов, использующими в процессах жизнедеятельности загрязняющие вещества. На этом явлении основаны приёмы микробиологической индикации загрязнения водной среды [1].

Учитывая значимость микробиологических показателей в оценке качества воды, в качестве биоиндикаторов чистоты природной воды могут быть использованы морфологические и структурные показатели бактериопланктона.

Изменение показателей обилия бактериопланктона, как одно из непосредственных последствий загрязнения водоёмов органикой в результате хозяйственной деятельности человека, используется при индикации степени эвтрофированности водоёмов [5].

Материалы и методы исследования

Объектом исследований являлась природная вода основных водотоков Псковской области — реки Великой (г. Псков) и реки Ловать (г. Великие Луки), служащие основными источниками питьевой воды для населения.

Река Великая — самая крупная река области. Длина ее 430 км, площадь водосбора 25200 км². Около 60 % водосборной площади занимают пашни и луга, 36 % — леса, 4 % — озера и болота. Река вытекает из озера М. Вяз на Бежаницкой возвышенности, впадает в Псковское озеро.

Река Ловать. Имеет протяжённость 530 км, площадь водосбора 21900 км², из них пашни и луга занимают 38 %, леса — 52 %, болота — 8 %, озера — 2 %. Бассейн р. Ловать занимает юго-восточную часть области, где располагается верховье и частично средняя часть течения реки. Протяжённость реки на территории области 250 км. Истоком является озеро Ловатец (в Витебской области), впадает в озеро Ильмень, образуя хорошо развитую дельту, площадью в 400 км² [9].

Отбор проб бактериопланктона из поверхностного слоя в прибрежной зоне выполнен в шести пунктах. Характеристика пунктов взятия проб приведена в Таблице 1.

Для микробиологической оценки качества воды исследуемых водотоков определяли количественный состав микрофлоры воды, изучали сезонную динамику численности микроорганизмов, анализировали морфологические и структурные показатели бактериопланктона, а также выявляли присутствие тионовых и нитрифицирующих бактерий.

Определение общей численности бактериопланктона проводили путём посева разведённой исследуемой воды (1:10, 1:100) объёмом 1 мл в расплавленную стерильную питательную среду и последующей инкубацией в течение 5 дней при температуре 28–30 °С. Состав питательного агара для культивирования микроорганизмов, г/л: панкреатический гидролизат кильки — 17,9, агар микробиологический — 11,2, натрия хлорид — 7,7. Число бактерий определяли путем прямого подсчёта колоний на твёрдой питательной среде. Результат выражали в КОЕ/мл.

Для определения тиобацилл использовали среду Бейеринка следующего состава (г/л): Na_2SO_4 — 5,0; NH_4Cl — 0,1; $NaHCO_3$ — 0,1; $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ — 2,0; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ — 0,1; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ — следы; стерильная вода. Тиосульфат и бикарбонат стерилизовали по отдельности, растворив в небольшом количестве воды, и после охлаждения добавляли в раствор остальные соли вместе с $FeSO_4$ (рН среды 9,2–9,4). Исследуемую воду объёмом 1 мл засеивали в готовую среду. При наличии тионовых бактерий в посевном материале среда мутнеет через 2–3 дня, и на её поверхности появляется плёнка молекулярной серы, которая образуется при окислении тиосульфата. Характер развития бактерий оценивался условно по следующей шкале:

- слабая степень образования серы — среда мутная, без осадка;
- средняя степень образования серы — среда мутная, с осадком.

Характеристика пунктов взятия проб природной воды

№	Пункты взятия проб	Характеристика
Река Великая		
1.	500 м ниже водозабора (Горводоканал — район водозабора)	В 200 м расположен МУП «Горводоканал». Рядом с пунктом имеется труба выхода сточно-ливневых вод.
2.	3000 м ниже водозабора. (Городской пляж — черта города)	Район пляжа находится между мостами Ольгинский и 50-летия Октября. В 200 м находится Мирожский мужской монастырь. На противоположном берегу расположена гребная база «Фрегат». Жителями города данное место используется для отдыха
3.	6000 м ниже водозабора (Снятная гора — окраина города)	Пункт располагается в 1,5 км от г. Пскова. В 200 м расположен Снято-Муровецкий женский монастырь. Жителями города данное место используется для ловли рыбы
Река Ловать		
1.	1000 м выше водозабора между д. Мордовичи и д. Воробецкое	Выше по течению в 200 м от пункта на возвышении расположено городское кладбище. Ниже по течению в 1000 м в районе д. Рябики производится городской забор воды. В летнее время район активно используется жителями города для отдыха
2.	1000 м ниже водозабора. (Набережная лейтенанта Шмидта — черта города)	Черта города, вблизи на берегу расположена Великолукская масло-сыр база. В 100 м выше по течению от пункта забора воды находится городская плотина
3.	2000 м ниже водозабора между д. Рыканово и д. Слобода (окраина города)	Вокруг пункта сбора проб находятся сельскохозяйственные угодья. В реку Ловать в 500 м выше пункта впадает р. Коломенка, используемая для сброса загрязнённых вод. В 150 м расположена несанкционированная свалка

Сильная степень образования серы — среда мутная, с хорошо выраженным осадком и образованием заметной плёнки.

Для определения нитрифицирующих бактерий использовали среду Виноградского следующего состава (г/л): $(NH_4)_2SO_4$ — 1; K_2HPO_4 — 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,2; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,2; $NaCl$ — 1; стерильная вода 0,5 л. Среду разливали в колбы по 15 мл с толщиной слоя 1–1,5 см. В каждую колбу вносили на кончике шпателя небольшое количество мела. Посев проводили в объеме по 1 мл из исходной природной воды и ее разведений 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} . Инкубацию посевов проводили при 28–30 °С в течение трёх недель. Присутствие нитрифицирующих бактерий устанавливали по появлению нитратов. Выявление нитратов проводили с помощью дифениламина по появлению интенсивного синего окрашивания. Содержание нитрифицирующих бактерий определяли как наиболее вероятное число (клеток/мл исследуемой воды) по статистическим таблицам Мак-Креди [2].

Результаты исследований

Определение общего количества бактерий в водотоках позволяет судить о концентрации органического вещества, продуктивности, санитарном состоянии водоемов и степени минерализации органики.

Нами была определена численность бактериопланктона в различные месяцы года в двух водотоках Псковской области р. Великая и р. Ловать. Полученные данные представлены в Таблицах 2 и 3. Анализ количественного состава микрофлоры воды р. Великой (см. Таблицу 2, Рис. 1) показал, что наиболее высокая численность бактериопланктона в р. Великая, в среднем за исследуемый период, отмечалась в летние месяцы. Максимальное значение количества микроорганизмов отмечено в июне и июле и составило в среднем по г. Пскову, соответственно 6332 и 6507 КОЕ/мл. Наименьшее количество микроорганизмов характерно для осеннего периода — в сентябре и октябре, соответственно, 850 и 303 КОЕ/мл.

Как видно из Таблицы 2, показатели количества бактериопланктона в различные месяцы по различным пунктам имеют общую тенденцию, но отличаются по своим значениям. Наиболее высокая численность микроорганизмов отмечена в пробах воды с окраины города Пскова в июне — 9363 КОЕ/мл, в районе водозабора в июле — 9413 КОЕ/мл, а также в черте города в мае — 7283 КОЕ/мл.

Таблица 2

Количественный состав микрофлоры воды в р. Великая, КОЕ/мл

Пункты	май	июнь	июль	август	сентябрь	октябрь	Среднее
Район водозабора г. Пскова	2340	6647	9413	1363	1033	390	3531
Черта г. Пскова	7283	2987	4827	777	1037	283	2866
Окраина г. Пскова	4280	9363	5280	1827	480	237	3578
Среднее значение по р. Великая	4634	6332	6507	1322	850	303	9975

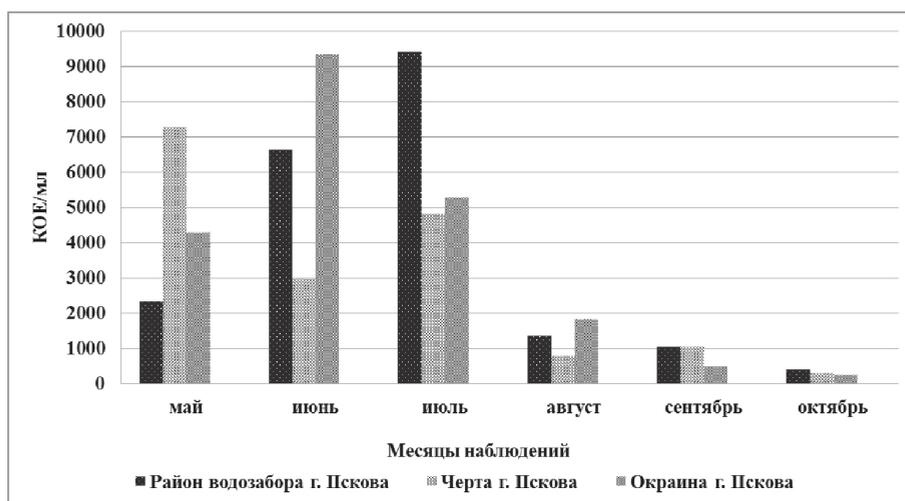


Рис. 1. Динамика количественного состава микрофлоры воды в р. Великая (2010 г.)

Постепенное увеличение численности микроорганизмов в воде р. Великой с весеннего периода в последующие месяцы и резкий спад с августа и до конца осеннего периода четко прослеживается в пробах воды, взятых на окраине г. Пскова и в районе водозабора. В черте г. Пскова динамика численности бактерий в р. Великой не имеет четко выраженной закономерности по месяцам.

В Таблице 3 и на Рисунке 2 представлены данные по количественному составу микрофлоры воды в р. Ловать.

Таблица 3

Количественный состав микрофлоры воды в р. Ловать, КОЕ/мл

Пункт	май	июнь	июль	август	сентябрь	октябрь	Среднее
Район водозабора г. Великие Луки	1733	9537	12240	9007	3583	190	6048
Черта г. Великие Луки	753	4990	6293	1637	443	13640	4626
Окраина г. Великие Луки	5550	2200	5707	2547	443	890	2890
Среднее значение по р. Ловать	2679	5575	8080	4397	1486	4907	13564

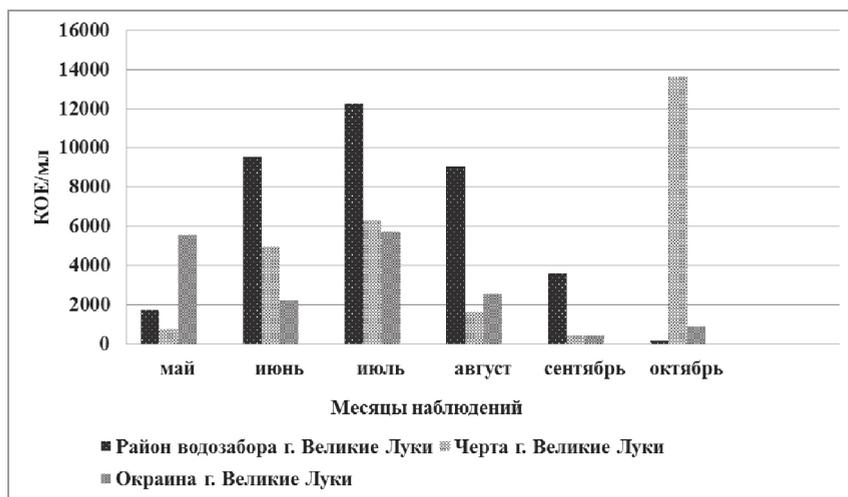


Рис. 2. Динамика количественного состава микрофлоры воды в р. Ловать (2010 г.)

В р. Ловать наиболее высокая численность бактериопланктона отмечена в летний период — в июле (8080 КОЕ/мл). В сентябре зафиксировано наименьшее значение количества микроорганизмов (1486 КОЕ/мл). Следует отметить, что в октябре в пробах воды из р. Ловать в черте города отмечено сильное повышение численности бактериопланктона до 13640 КОЕ/мл. Возможно, это связано с реконструкцией в этот период времени городской плотины, находящейся в данном районе.

Наиболее высокая численность микроорганизмов в р. Ловать отмечена в районе водозабора в летние месяцы (9–12 тыс. КОЕ/мл). Данный участок характеризуется более медленным, по сравнению с другими участками реки течением, в результате чего вода лучше прогревается, что стимулирует развитие бактерий. Кроме того, район водозабора жителями города используется для отдыха и купания в летний период времени, что также повлияло на численность бактерий.

В среднем по р. Ловать по месяцам прослеживается такая же тенденция, что и по р. Великая: увеличение числа микроорганизмов летом и спад их численности, начиная с августа и до конца осеннего периода.

Таким образом, изучение динамики численности бактериопланктона в р. Великая и р. Ловать показало общую закономерность для обеих исследуемых рек: повышение численности бактерий в летние месяцы и её спад, начиная с августа и до конца осеннего периода. Полученные данные позволяют также сделать вывод о том, что р. Ловать характеризуется более высокой бактериальной загрязнённостью, по сравнению с р. Великой. Превышение количественного состава бактериопланктона в р. Ловать, по сравнению с р. Великой, в среднем составляет примерно 36 %.

Изучение структурных и морфологических показателей бактериопланктона является неотъемлемой частью характеристики санитарного состояния водоемов и позволяет понять закономерности формирования и особенности функционирования водоемов во времени. По мере использования водоема количество кокковидных клеток уменьшается, а палочковидных возрастает. Такие изменения в структурных показателях бактериопланктона, регистрируемые в сезонной и многолетней динамике, могут служить косвенным показателем внутриводоемных процессов и антропогенного воздействия на них [5]. В чистых водоемах до 80 % всей аэробной сапрофитной микрофлоры приходится на долю кокковых форм бактерий, остальные преимущественно составляют бесспорные палочковидные бактерии. Таким образом, соотношение морфологических форм бактерий является индикатором уровня органического загрязнения водного объекта. Так, на завершающихся стадиях распада органического вещества в водоеме преобладают шаровидные бактерии, высокая численность палочковидных форм бактерий свидетельствует о большом количестве трудно разлагаемого органического вещества [6].

Морфологическая структура бактериопланктона исследуемых рек представлена в Таблицах 4 и 5. Как видно из Таблицы 4, в большинстве отобранных нами проб воды из р.Великой на протяжении всех месяцев преобладали кокковые формы клеток. Тем не менее доля палочковидных форм достаточно велика и варьирует в разные месяцы в различных пунктах от 29 до 67 %. Высокое содержание палочек приходится в основном на летние месяцы. В ряде случаев палочки в пробах воды отсутствовали. В среднем в воде р. Великой процентное соотношение палочек и кокков составило 1 : 2,3. Это свидетельствует о недостаточно высоком уровне самоочищения, происходящим в р. Великой.

Морфологическая структура бактериопланктона в р. Великой в целом достаточно стабильна и не имеет существенных отличий в исследуемых районах.

Таблица 4

Морфологическая структура бактериопланктона в р. Великой, %

<i>Пункты</i>	<i>Район водозабора</i>		<i>Черта г. Пскова</i>		<i>Окраина г. Пскова</i>	
	<i>Палочки</i>	<i>Кокки</i>	<i>Палочки</i>	<i>Кокки</i>	<i>Палочки</i>	<i>Кокки</i>
Май	44	56	50	50	29	71
Июнь	33	67	33	67	67	33
Июль	0	100	25	75	50	50
Август	33	67	0	100	33	67
Сентябрь	33	67	33	67	0	100
Октябрь	40	60	33	67	0	100
В среднем	30	70	29	71	30	70

В морфологическом составе бактериопланктона р. Ловать (см. Таблицу 5) также в большинстве случаев преобладали кокки. Доля палочек варьирует от 25 до 78 %. Соотношение палочковидных и кокковых форм бактерий в различных пунктах исследования и в разные месяцы было достаточно изменчиво, и в среднем составило 1:1,8, причём между исследуемыми участками реки имеются отличия. Доля палочек в районе водозабора максимальна, по сравнению с другими участками р. Ловать, что свидетельствует о высоком содержании в воде органических веществ.

Таблица 5
Морфологическая структура бактериопланктона в р. Ловать, %

<i>Пункты</i>	<i>Район водозабора</i>		<i>Черта г. Великие Луки</i>		<i>Окраина г. Великие Луки</i>	
	Палочки	Кокки	Палочки	Кокки	Палочки	Кокки
Месяцы						
Май	40	60	78	22	33	67
Июнь	67	33	50	50	50	50
Июль	33	67	25	75	40	60
Август	50	50	0	100	0	100
Сентябрь	25	75	25	75	33	67
Октябрь	33	67	33	67	33	67
В среднем	41	59	35	65	32	68

Таким образом, в среднем в воде р. Великой и р. Ловать по морфологическому составу доминируют кокки. Увеличение доли палочковидных форм в ряде случаев свидетельствует об антропогенной нагрузке на реки в данные периоды времени, связанной с повышением содержания органики.

Органика, бытовые отходы, различные поверхностно-активные вещества являются поставщиками соединений серы, таких как сероводород, сульфиды, сульфит, тиосульфат и других, которые окисляются тионовыми бактериями. Исходя из сказанного, наличие тионовых бактерий в пробах природной воды может свидетельствовать о присутствии в ней органических загрязнений.

Нами были исследованы пробы природной воды рек Великая и Ловать на наличие тионовых бактерий. Присутствие тионовых бактерий определялось по помутнению и характеру образования плёнки серы на поверхности питательной среды.

Из Таблиц 6 и 7 видно, что тионовые бактерии были выявлены во всех исследуемых пробах природной воды, что позволяет сделать вывод о наличии в водотоках Великая и Ловать органических загрязнений, содержащих серу. В основном, в изученных вариантах отмечена средняя степень образования серы, реже сильная и слабая.

Таблица 6
Степень образования пленки серы в пробах воды р. Великая, г. Псков

Пункт	Повторности проб		
	1	2	3
Район водозабора	средняя	сильная	средняя
Черта г. Пскова	слабая	средняя	средняя
Окраина г. Пскова	средняя	средняя	средняя

Таблица 7

Степень образования пленки серы в пробах воды р. Ловать, г. Великие Луки

Пункт	Повторности проб		
	1	2	3
Район водозабора	сильная	средняя	сильная
Черта г. Великие Луки	средняя	средняя	средняя
Окраина г. Великие Луки	средняя	слабая	средняя

Таким образом, присутствие в воде р. Великая и р. Ловать тионовых бактерий свидетельствует о наличии в этих водотоках органики и бытовых отходов. При общей средней загрязненности соединениями серы, по нашим данным, несколько более загрязнена р. Ловать, что коррелирует с данными по общей численности бактерий и с данными по содержанию в исследуемой воде нитрифицирующей бактерий (см. Таблицу 8).

Нитрифицирующие бактерии осуществляют процессы нитрификации в водотоках, утилизируя при этом полимерные соединения и потребляя аммонийный азот. Наличие нитрифицирующих бактерий в воде свидетельствует о содержании полуразложившихся органических остатков, вовлеченных в процесс аммонификации. Нитрификация начинает интенсивно протекать в водотоке, как механизм самоочищения в ответ на органическое загрязнение [6].

Полученные данные по количеству нитрифицирующих бактерий представлены в Таблице 8 и на Рисунке 3.

Таблица 8

Содержание нитрифицирующих бактерий в реках Великая и Ловать, клеток/мл

Река	Район водозабора	Черта города	Окраина города	Среднее значение
Великая	60	9	35	34,7
Ловать	115	130	300	181,7

Как следует из Таблицы 8, во всех пробах воды обнаружены нитрифицирующие бактерии, что свидетельствует о наличии в воде органики, вовлечённой в процесс аммонификации. В реке Великая максимальное содержание нитрифицирующих бактерий отмечено в районе водозабора, в реке Ловать — на окраине города. В р. Ловать численность нитрифицирующих бактерий значительно выше, чем в р. Великой, в среднем в 6 раз. Это свидетельствует о большей загрязненности р. Ловать органическими веществами.

ВЫВОДЫ

1. Общая численность бактериопланктона для обеих исследуемых рек закономерно повышается в летние месяцы и снижается, начиная с августа и до конца осеннего периода. Бактериальная загрязненность р. Ловать в среднем на 36 % больше, чем р. Великая.

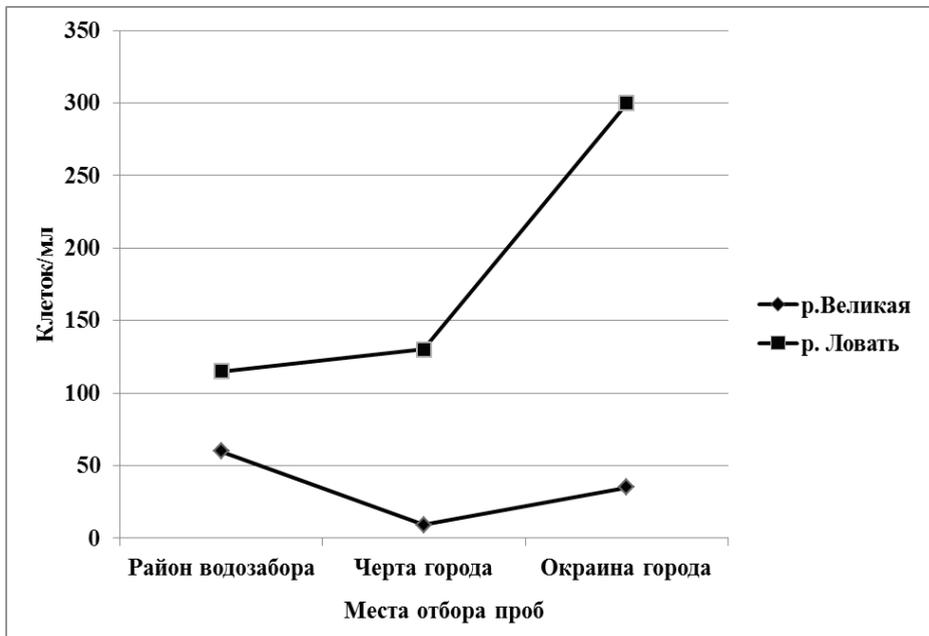


Рис. 3. Содержание нитрифицирующих бактерий в реках Великая и Ловать

2. В морфологическом составе бактериопланктона исследуемых рек доминируют кокки. В среднем в воде р. Великой процентное соотношение палочек и кокков составило 1 : 2,3, в р. Ловать 1:1,8. Увеличение палочковидных форм свидетельствует о высокой антропогенной нагрузке и о наличии в воде большого количества трудно разлагаемого органического вещества.

3. Наличие в воде исследуемых рек тионовых и нитрифицирующих бактерий свидетельствует о присутствии в этих водотоках органики и бытовых отходов. Содержание нитрифицирующих бактерий в р. Ловать в среднем в 5 раз больше, чем в р. Великая. Содержание тионовых бактерий также больше в р. Ловать.

4. По сумме исследованных показателей более загрязненной является река Ловать.

5. Оценка состояния природных водотоков по количественным, структурным и морфологическим показателям бактериопланктона позволяет использовать их как биоиндикаторные характеристики внутриводоемных процессов и антропогенного воздействия на них.

Литература

1. Абакумов В. А. Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений. Л.: Гидрометеиздат, 1983. 218 с.
2. Егорова Н. С. Практикум по микробиологии. М.: МГУ, 1976. 307 с.
3. Киреева И. Ю. Морфологические и структурные показатели бактериопланктона как биоиндикаторы // Биоиндикация в мониторинге пресноводных экосистем / Отв. ред. Румянцев В. А., Трифонова И. С. СПб.: Лема, 2007. 338 с.
4. Константинов А. С. Общая гидробиология. М.: Высшая школа, 1979. 480 с.
5. Кренева С. В. Система экологического контроля состояния природных вод // Гидробиол. журн. 1993. Т. 29. № 3. С.88–96.
6. Мамонтова Л. М. Основы микробиологического мониторинга водных экосистем и контроля питьевой воды. Автореф. дис. докт. биол. наук. Иркутск, 1998. 40 с.

7. Опекунова М. Г. Биоиндикация загрязнений. СПб.: Издательство Санкт-Петербургского государственного университета, 2004. 266 с.
8. Петряков И. В. Самое необыкновенное вещество в мире. М.: Раритет, 1998. 96 с.
9. Природа Псковской области. Псков, 1974.

I. Khmelevskaya

MICROBIOLOGICAL INDICATION OF POLLUTION OF WATER ENVIRONMENT

The article is devoted to the microbiological research of the major waterways of the Pskov region: the Velikaya and the Lovat rivers. The morphological and structural indicators of bacterial plankton are used as bio-indicators of natural water quality. The presence of thionic and nitrifying bacteria in the water is revealed, comparative analysis of bacterial contamination of the Velikaya and the Lovat rivers is carried out.

Key words: *bioindication, bacterial plankton, thionic bacteria, nitrifying bacteria.*