

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОДЫ И ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ОЗЕРА ТУНАЙЧА

А. В. Полтева

**Сахалинский научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства и океанографии (Южно-Сахалинск)**

В рамках Программы изучения экологического состояния озера Тунайча, крупнейшего водоема Сахалинской области, отнесенного к памятникам природы, отделом прикладной экологии СахНИРО с 2001 г. осуществляются комплексные гидробиологические экспедиции. Цель проводимых исследований заключается в описании условий обитания гидробионтов и общей характеристики состояния сообществ озера. Одной из задач является выявление структуры гетеротрофного микробного сообщества воды и донных отложений с определением численных показателей физиологических групп микроорганизмов. Динамика численности эколого-трофических групп микроорганизмов используется в качестве критерия загрязнения при оценке экологической ситуации водоема, а также позволяет судить об интенсивности проходящих процессов в водоеме и их направленности (Кондратьева и др., 2000).

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал для исследований был собран в 2001–2002 гг. Объем собранного для исследований материала представлен в таблице 1, схема района работ – на рисунке 1.

Пробы воды для микробиологических исследований отбирали стерильными пластиковыми шприцами на глубине 50 см, пробы донных отложений отбирали дночерпателем, затем переносили в стерильную стеклянную посуду с соблюдением необходимой стерильности. Высев на питательные среды осуществляли методом предельных разведений с пересчетом выросших колоний на 1 мл для воды и на 1 г для донных отложений (Практикум..., 1976; Родина, 1965; Лабинская, 1978).

Сапрофитные гетеротрофные бактерии, участвующие в разложении органических соединений, определяли на рыбопептонном агаре (РПА) и РПА, разведенном в десять раз (РПА:10); численность морских гетеротрофов – на модифицированной среде Йошимицу–Кимура (Yochimizu, Kimura, 1976); нитрифицирующие бактерии – на крахмало-аммиачном агаре (КАА).

**Объем собранного для исследований материала
с оз. Тунайча в 2001–2002 гг.**

Год	Дата отбора проб	Количество и вид проб
2001	15–17 августа	Шесть проб воды, одна проба грунта
2002	21–22 мая	Восемь проб воды, шесть проб грунта
	8–10 августа	Шесть проб воды
	13 ноября	Четыре пробы воды

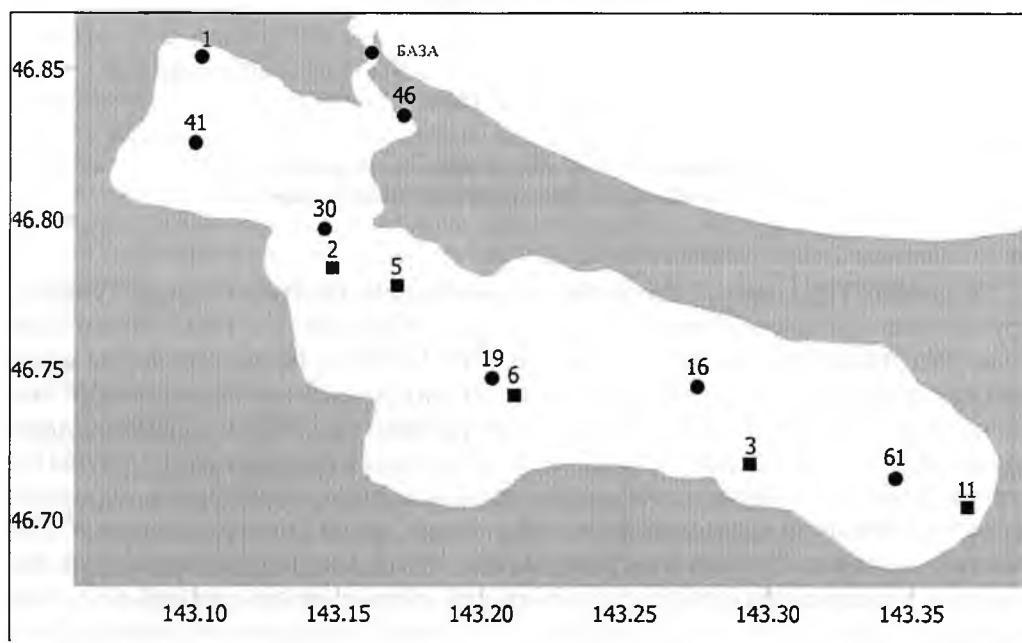


Рис. 1. Схема расположения станций отбора микробиологических проб: ■ – в 2001 г., ● – в 2002 г.

Коэффициент минерализации рассчитывали по формуле:

$$KM=N \text{ КАА}/N \text{ РПА},$$

где N – число микроорганизмов на соответствующих питательных средах (Никитин, Никитина, 1978).

Для фенолрезистентных бактерий применяли агаризованную среду, содержащую минеральный фон и 1 г/л монофенола, в качестве единственного источника углерода; для углеводородокисляющих – агаризованную среду минерального состава с добавлением сырой нефти в концентрации 1 г/л. Посевы инкубировались при температуре 20–24°C в течение 2–14–21 суток.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сапрофитные бактерии являются постоянным компонентом водных микробиоценозов. Они обладают специфичностью по отношению к органическим веществам (ОВ) и высокой чувствительностью даже к следовым их кон-

центрациям. Численность сапрофитных бактерий значительно выше в тех районах, где высоко содержание легкоокисляемых органических веществ (Максимов и др., 2002).

В августе 2001 г. численность сапрофитных микроорганизмов евтрофной группы, ведущих начальные этапы минерализации органического вещества (РПА), в воде озера составляла десятки–сотни клеток/мл. Максимальная численность этой группы микроорганизмов – 2,1 тыс. клеток/мл – была отмечена на станции, расположенной в нескольких метрах от берега, где отмечалась высокая концентрация фитопланктона (Саматов и др., 2002). Более активной была группа гетеротрофных микроорганизмов, использующих низкие концентрации органического вещества (РПА:10). На трех станциях численность этой группы была порядка нескольких тысяч клеток/мл и имела значения 2,48–3,33–4,0 тыс. клеток/мл, на двух станциях составляла десятки–сотни клеток/мл. В донных отложениях численность сапрофитов, разлагающих легкодоступную органику различных концентраций, была на один-два порядка выше: 94,5 (РПА) и 130 (РПА:10) тыс. клеток/г (табл. 2).

Таблица 2

Численность планктонных и бентосных гетеротрофных микроорганизмов оз. Тунайча в августе 2001 г.

Станция		Численность микроорганизмов, тыс. клеток/мл (вода), тыс. клеток/г (грунт)					Коэффициент минерализации
		РПА	РПА:10	КАА	Й-К	нефть	
Вода	11	0,08	–	0,58	0,52	–	7,25
	2	0,20	0,07	1,50	0,01	0,125	7,50
	3	0,11	2,48	0,97	1,58	–	8,81
	5	0,60	0,50	2,02	0	0,112	3,36
	6	0,57	3,33	1,39	–	–	2,44
	9	2,10	4,00	4,50	0,05	0,270	2,14
Грунт		94,50	130,00	255,00	–	–	2,69

Численность гетеротрофной группы, потребляющей аммонийный азот (КАА) и участвующей в процессах дальнейшей минерализации ОВ, в воде лежала в пределах 0,58–4,5 тыс. клеток/мл, в грунте составила 255 тыс. клеток/г. Минерализация органического вещества шла как в водной толще, так и в грунте. Коэффициенты минерализации различались по станциям в 2–3,5 раза. Менее интенсивно эти процессы шли на станции 9, характеризовавшейся значительными скоплениями биомассы фитопланктона. Здесь коэффициент минерализации был самым низким – 2,14. Незначительно выше был коэффициент минерализации в грунте – 2,69, это могло свидетельствовать либо о накоплении трудноминерализуемых органических остатков, либо об угнетении процессов аэробного разложения и доминировании анаэробных процессов восстановления ОВ, в пользу чего говорил сильный запах сероводорода при поднятии грунта на поверхность (см. табл. 2).

Озеро Тунайча относится к солоноватоводным бассейнам (Микишин и др., 1995). Построенная в середине 1970-х годов дамба и обмеление протоки, соединяющей озеро с морем, затрудняют поступление морской воды в водоем. В

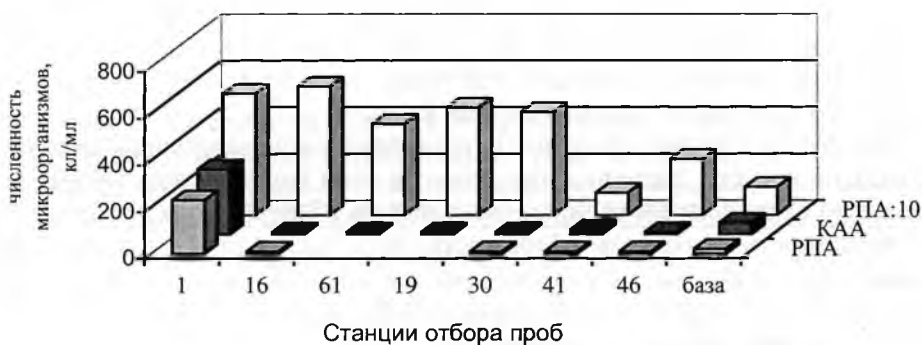
настоящее время для поверхностных вод соленость составляет 2,2–2,4‰ (Саматов и др., 2002). Представлялось интересным посмотреть, насколько многочисленна галотолерантная часть гетеротрофного микробного сообщества. Интервал величин численности этой группы лежал в пределах от 0 до 1,58 тыс. клеток/мл (см. табл. 2). Присутствие этой группы микроорганизмов указывает на функционирование водной системы озера в режиме соленых вод. Динамические годовые изменения численности галотолерантной группы можно использовать как дополнительный показатель при описании изменений в экосистеме водоема и прогнозировании экологической ситуации для озера.

Численность фенолрезистентных и нефтеокисляющих бактерий используется, как правило, при микробной индикации загрязнения водных систем фенолами и углеводородами и выявлении зон с повышенным содержанием этих веществ (Гусев, 1980; Димитриева, 1995; Dimitrieva, 1999; Dimitrieva et al., 1997; Коронелли и др., 1987; Квасников, Ключникова, 1981; Миронов, 1971). Показатели численности нефтеокисляющих бактерий, определенные в трех пробах воды, были одного порядка и составили в среднем 0,169 тыс. клеток/мл (см. табл. 2). Определение фенолрезистентных микроорганизмов не проводилось, однако проведенные параллельно исследования качества рыбы из озера Тунайча выявили присутствие на жабрах рыбы фенолрезистентных бактерий численностью $5,0 \times 10^3$ КОЕ/г (Полтева, Кондратьева, 2003). Жабры рыб находятся в постоянном контакте со средой обитания, поэтому состав микроорганизмов жабр соответствует таковому воды и является показателем состояния самой среды. Поскольку активной хозяйственной деятельности, в результате которой могли бы поступать в значительных количествах техногенные фенолы, в районе озера не ведется, этот показатель, скорее, отражал не загрязнение, а указывал на характер происходящих процессов самоочищения водоема, в результате которых образовывались фенольные соединения природного происхождения.

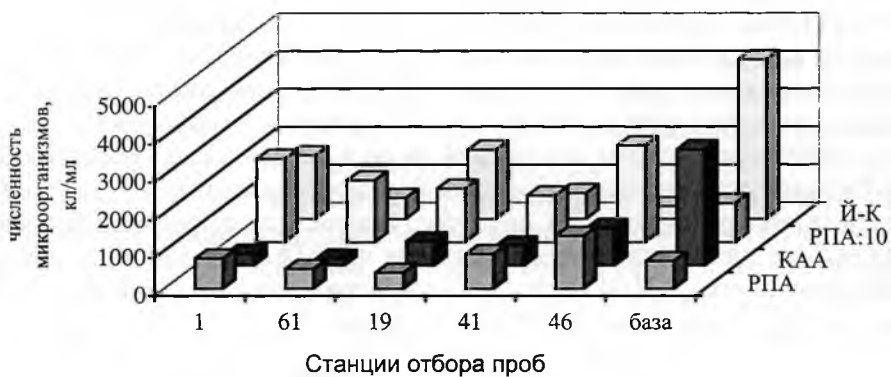
В 2002 г. пробы воды были отобраны весной, летом и осенью, что позволяет проследить динамику численности гетеротрофного сообщества воды. Минимальные показатели численности сапрофитных гетеротрофов, потребляющих легкодоступную органику (РПА, РПА:10) и минерализующих аммонийный азот (КАА), были в мае (рис. 2а). Численность сапрофитных евтрофных микроорганизмов (РПА) составляла в большинстве проб десятки клеток/мл. Максимальной численность была на станции 1 – 230 клеток/мл. На двух станциях – 61 и 19 – эта группа отсутствовала. Средняя численность гетеротрофов (РПА:10) составила 351 клетку/мл. Группа микроорганизмов, потребляющих аммонийный азот (КАА), была представлена в большинстве проб десятками клеток/мл. Максимальные показатели вышеописанных групп были отмечены для станции 1, расположенной в береговой зоне, где происходит более интенсивное накопление аллохтонных органических веществ (рис. 2а).

Активно развивались все гетеротрофные группы в летний период. К концу лета, в августе, средняя численность гетеротрофов евтрофной группы возросла до 799 клеток/мл, а максимальная составила 1400 кл/мл. На порядок выше весенней была концентрация гетеротрофов, развивающихся в условиях низких концентраций органического вещества (РПА:10). Средние значения составили 1675 клеток/мл, минимальные – 1030 клеток/мл, максимальные – 2550 клеток/мл (рис. 2б). Выросла численность нитрифицирующих бактерий, составляя в среднем 492 клетки/мл, с максимальным значением 990 клеток/мл.

а) Весна



б) Лето



в) Осень

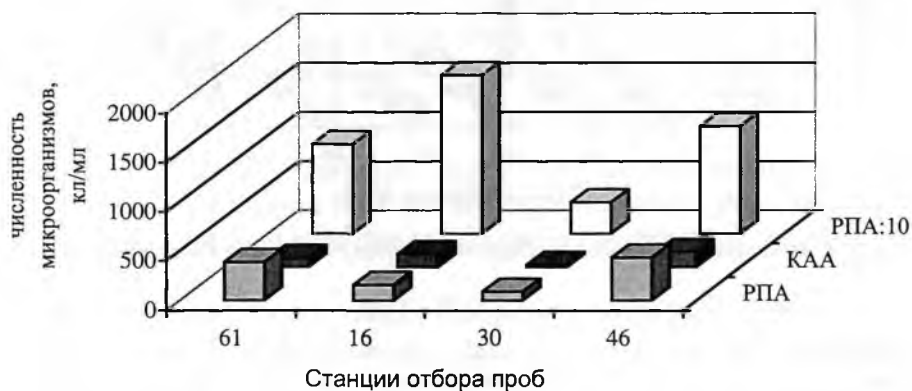


Рис. 2. Структура микробного сообщества воды оз. Тунайча в весенне-летне-осенний сезон 2002 г.

Заметное снижение численности гетеротрофов наблюдалось в осенний период. Однако показатели численности гетеротрофных групп превышали таковые весеннего периода. Среднее значение евтрофной группы составляло 267 клеток/мл, с минимумом 90 клеток/мл и максимумом 435 клеток/мл; среднее значение гетеротрофной группы, растущей на РПА:10, – 982 клеток/мл. Концентрация нитрифицирующих бактерий была десятки–сотни клеток/мл и составила в среднем 97 клеток/мл (рис. 2в).

Численность галотолерантной группы бактериопланктона была определена только в августе. Значения численности этой группы сопоставимы с численностью сапрофитной группы, растущей на РПА:10. Максимальное значение численности галофилов – 4200 клеток/мл – было в пробе воды со станции, находившейся в протоке, через которую поступают морские воды в залив, повышая соленость и создавая тем самым благоприятные условия для развития галотолерантных микроорганизмов (рис. 2б).

Микробиологические показатели грунта были определены только в весенний период 2002 г. Значения численности гетеротрофных групп в грунте были на один-два порядка выше таковых воды. В пробах воды со станций 1, 16, 61, 41, 46 концентрация микроорганизмов евтрофной группы была однородной и составляла в среднем 4200 клеток/г. Гетеротрофные микроорганизмы, потребляющие органические вещества в низких концентрациях, в этих пробах были представлены численностью в среднем 1800 клеток/г, средняя численность нитрифицирующих бактерий была 480 клеток/г. Более многочисленным гетеротрофное сообщество донных отложений было в протоке озера (станция база), расположенной в хозяйственно-бытовой зоне поселка Охотское. Значения численности гетеротрофных групп здесь составляли: для евтрофных бактерий – 28300 клеток/г, для гетеротрофов, растущих на РПА:10, – 18600 клеток/г, для нитрифицирующих – 17100 клеток/г. Галотолерантная часть сообщества была представлена численностью 21400 клеток/г (рис. 3).

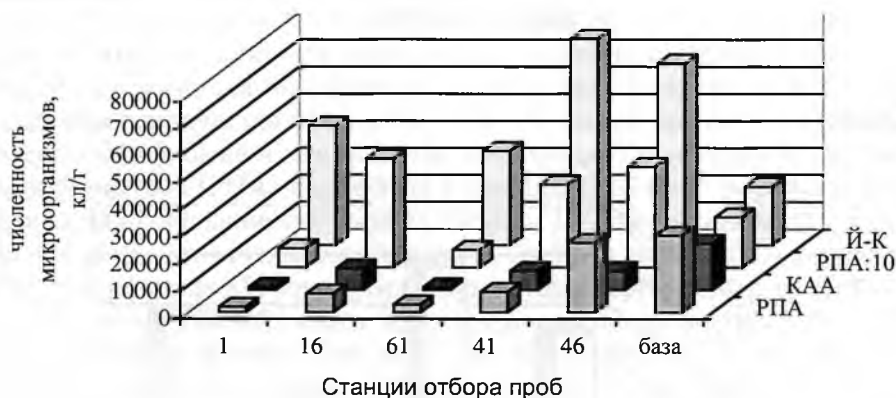


Рис. 3. Структура микробного сообщества грунта оз. Тунайча в мае 2002 г.

Весной 2002 г. было проведено определение двух индикаторных групп микроорганизмов: нефтеокисляющих и фенолрезистентных. Первые определялись в пробах воды и донных отложений, вторые – только в грунте. Полученные результаты представлены в таблице 3. Нефтеокисляющая флора отсутствовала в четырех пробах воды. В трех пробах численность составила 10–10–50 клеток/мл. Максимальным значение численности этой группы было

380 клеток/мл. В донных отложениях средняя численность нефтеокисляющих микроорганизмов составляла 165 клеток/г. Фенолрезистентные микроорганизмы были обнаружены только в двух пробах воды, где их численность составила 200 клеток/г и 5600 клеток/г.

Таблица 3

Численность нефтеокисляющих и фенолрезистентных микроорганизмов в воде и донных отложениях оз. Тунайча в мае 2002 г.

Вид пробы	Численность микроорганизмов, кл/мл (вода), кл/г (грунт)							
	Станции отбора проб							
	1	16	61	19	30	41	46	база
Нефтеокисляющие								
Вода	50	10	0	380	10	0	0	0
Грунт	320	0	140	–	–	80	0	121
Фенолрезистентные								
Грунт	0	0	200	–	–	0	0	5600

Анализируя полученные в 2001–2002 гг. микробиологические показатели воды и донных отложений оз. Тунайча, можно отметить сезонные изменения численности гетеротрофных микроорганизмов. Максимальные значения численности всех изученных групп гетеротрофов воды приходились на лето, снижались к осени и регистрировались минимальными в весенний период. Повышенные концентрации гетеротрофов отмечались в местах поступления аллохтонного органического вещества: вблизи береговой линии и хозяйственно-бытовой зоны, либо в местах скопления биомассы фитопланктона. По численности евтрофная группа уступала гетеротрофам, потребляющим низкие концентрации органического вещества.

Весной, летом и осенью 2002 г. средние значения численности гетеротрофов, усваивающих минеральные формы азота, были несколько ниже численности микроорганизмов, разлагающих легкодоступное органическое вещество, что сдерживало темпы его минерализации. Минерализация органических веществ протекала в воде и более интенсивно в донных отложениях в летний сезон 2001 г.

По численности сапрофитов воды озера можно отнести к олиго-мезосапрофитным, или слабозагрязненным (Амбразене, 1984; Жукинский и др., 1980; ГОСТ, 1977).

Автор выражает искреннюю благодарность сотрудникам отдела прикладной экологии и лаборатории болезней рыб, принимавшим участие и оказавшим содействие в отборе проб для микробиологических исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амбразене, Ж. П. О принципах построения коассификации качества поверхностных вод / Ж. П. Амбразене // Комплекс. оценки качества поверхност. вод. – Л. : Гидрометеоздат, 1984. – С.48–60.
2. ГОСТ 17.1.2.04-77. Охрана природы, гидросфера. Показатели состояния и правила таксации рыбохозяйственных водных объектов. – М. : Гос. ком. стандартов Совета Министров СССР, 1977. – 18 с.

3. **Гусев, М. В.** Нефтяные загрязнения и микрофлора морских экосистем / М. В. Гусев, Т. В. Коронелли, В. В. Ильинский. – М. : Человек и биосфера, 1980. – Вып. 5. – С. 36–53.
4. **Димитриева, Г. Ю.** Микроорганизмы – биоиндикаторы фенольного загрязнения прибрежной морской среды / Г. Ю. Димитриева // Биология моря. – 1995. – Т. 21, № 6. – С. 407–411.
5. **Квасников, Е. И.** Микроорганизмы – деструкторы нефти в водных бассейнах / Е. И. Квасников, Т. М. Ключникова. – Киев : Наукова думка, 1981. – 132 с.
6. **Краткая характеристика водной биоты оз. Тунайча (южный Сахалин) в летний период** / А. Д. Саматов, В. С. Лабай, И. В. Мотылькова и др. // Биология, состояние запасов и условия обитания гидробионтов в Сах.-Курил. регионе и сопред. акваториях : Тр. СахНИРО. – Ю-Сах. : СахНИРО, 2002. – Т. 4. – С. 258–269.
7. **Лабинская, А. С.** Микробиология с техников микробиологических исследований / А. С. Лабинская. – М. : Медицина, 1978. – 392 с.
8. **Микишин, Ю. А.** Южный Сахалин. Озеро Тунайча / Ю. А. Микишин, В. Ф. Рыбаков, П. Ф. Бровко // История озер севера Азии. – СПб. : Наука, 1995. – С. 112–120.
9. **Микроорганизмы** в экосистемах Приамурья / Под ред. Л. М. Кондратьевой. – Владивосток : Дальнаука, 2000. – 198 с.
10. **Миронов, О. Г.** Нефтеокисляющие микроорганизмы в море / О. Г. Миронов. – Киев : Наукова думка, 1971. – 234 с.
11. **Никитин, Д. И.** Процессы самоочищения окружающей среды и паразиты бактерий / Д. И. Никитин, Э. С. Никитина. – М. : Наука, 1978. – 203 с.
12. **Полтева, А. В.** Микробиологическая оценка состояния ихтиофауны озера Тунайча (о. Сахалин) / А. В. Полтева, Л. М. Кондратьева. – (В печати).
13. **Принципы** и опыт построения экологической классификации качества поверхностных вод суши / В. Н. Жукинский, О. П. Оксийук, Г. Н. Олейник, С. И. Кошелева // Гидробиол. журн. – 1981. – Т. 17, № 2. – С. 38–49.
14. **Структура** микробиоценозов и их активность как основа классификации и мониторинга состояния речных и приустьевых локальных экосистем Байкала / В. В. Максимов, Е. В. Щетинина, О. В. Крайковская и др. // Микробиология. – 2002. – Т. 71, № 5. – С. 690–696.
15. **Углеводородокисляющая** микрофлора акваторий Балтийского моря и Куршского залива, загрязненных при разливе мазута / Т. В. Коронелли, В. В. Ильинский, В. А. Янушка, Т. И. Красникова // Микробиология. – 1987. – Т. 56, вып. 3. – С. 326–332.
16. **Dimitrieva, G. Yu.** The role of microorganisms in control and reservation of marine coastal environment / G. Yu. Dimitrieva // Proc. Intern. Symp. Earth-Water-Humans, Kanazawa, Japan. – 1999. P. 22–35.
17. **Using** Newly developed microbial methods for multy-factor fast estimation of quality of marine enviroment and its preservation from oil, phenol and biogenic pollution / G. Yu. Dimitrieva, S. M. Dimitriev, O. A. Drozdovskaya // Intern. symp. on preservation of the enviroment of the Japan Sea. Kanazawa. – 1997. – P. 17–35.
18. **Yochimizu, M.** Study on intestinal microflora of salmonids / M. Yochimizu, T. Kimura // Fish. Pathol. – 1976. – Vol. 10, No. 2. – P. 243–259.

Полтева, А. В. Микробиологическая характеристика воды и донных отложений озера Тунайча / А. В. Полтева // Биология, состояние запасов и условия обитания гидробионтов в Сахалино-Курильском регионе и сопредельных акваториях : Труды Сахалинского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии. – Ю-Сах. : СахНИРО, 2003. – Т. 5. – С. 251–258.

Получены количественные характеристики основных групп гетеротрофного микробного сообщества воды и донных отложений: сапрофитных гетеротрофов, растущих при различных концентрациях органического вещества; микроорганизмов, участвующих в минерализации полимерных субстратов и потребляющих аммонийный азот; нефтеокисляющих, фенолрезистентных и галотолерантных микроорганизмов. Выявлена сезонная динамика численности гетеротрофных групп с преобладанием сапрофитов, потребляющих органическое вещество низких концентраций. Отмечена интенсивность процессов минерализации для летнего сезона 2001 г.

Табл. – 3, ил. – 3, библиогр. – 18.

Polteva, A. V. Microbiologic characteristics of water and bottom sediments of the Tunaycha Lake / A. V. Polteva // Water life biology, resources status and condition of inhabitation in Sakhalin-Kuril region and adjoining water areas : Transactions of the Sakhalin Research Institute of Fisheries and Oceanography. – Yuzhno-Sakhalinsk : SakhNIRO, 2003. – Vol. 5. – P. 251–258.

Qualitative characteristics of the main groups from the water and bottom sediments heterotrophic microbe community: saprophyte heterotrophic organisms growing under the various concentrations of organic substances; microorganisms taking part in the mineralization of polymer substrates and consuming ammonium nitrogen; petroleum-oxidizing, phenol-resistant, and halo-tolerant microorganisms have been obtained during the study. A seasonal abundance dynamics of heterotrophic groups with saprophyte dominants consuming organic substances of low concentrations is revealed. The intensity of the mineralization processes is noted for the 2001 summer season.

Tabl. – 3, fig. – 3, ref. – 18.