

УДК 579:504.5(470.21)(26.04)

РАЗРАБОТКА МЕТОДОЛОГИИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ БАССЕЙНА КОЛЬСКОГО ЗАЛИВА

Перетрухина А.Т., Богданова О.Ю., Макаревич Е.В., Мищенко Е.С.,
Новикова А.Н.

*ФГОУ ВПО «Мурманский государственный технический университет»,
Мурманск, e-mail: peretruchinaat@mail.ru*

На основе многолетних исследований бассейна Кольского залива была разработана методология комплексного микробиологического мониторинга водных экосистем с учетом изменяющихся абиотических характеристик водной среды. Проанализированы данные по изучению структуры микробных сообществ воды Кольского залива, в том числе по качественному и количественному составу гетеротрофных, санитарно-показательных и условно-патогенных микроорганизмов. Оценен отклик микробных сообществ исследуемых акваторий на изменение абиотических факторов среды (температуры, солености, органических веществ (ОВ), биогенов). Осуществлен выбор микробиологических параметров в качестве индикаторов состояния водных экосистем.

Ключевые слова: Кольский залив, индикаторы загрязнения, бактериопланктон, санитарно-показательные микроорганизмы, условно-патогенные бактерии, олиготрофы, евтрофы

Кольский залив – крупнейший фьорд Лапландии, подверженный значительной антропогенной нагрузке. В бассейн Кольского залива входят: река Роста, озера Ледовое, Семеновское, ручьи Варничный, Фадеев, две крупнейшие реки Кола и Тулома, имеющие собственные бассейны и составляющие основную часть пресноводного баланса залива.

Основными источниками загрязнения вод Кольского залива являются гарнизоны Северного флота, суда, не менее 60 крупных предприятий, сбрасывающих в залив более 60 млн м³ стоков в год, из которых порядка 80% с минимальной степенью очист-

ки. Наибольшая степень загрязнения воды наблюдается в портах Кольского залива, где в водах наблюдается превышение ПДК по содержанию нефтепродуктов, фенолов, концентрации меди и железу [3]. Службами Гидрометцентра регулярно проводится мониторинг химического и радиологического загрязнения водных масс (ВМ) прибрежной зоны Баренцева моря, систематизируются данные о поступающих загрязняющих веществах.

По нашему мнению, для оценки экологического благополучия мониторинг водных систем должен включать биотический и санитарный аспекты, осветить которые

способны достаточно чувствительные тонкие индикаторы, к которым относятся микробиологические показатели. Целью работы явилась разработка методологии комплексного микробиологического мониторинга водных экосистем бассейна Кольского залива с учетом изменяющихся абиотических характеристик водной среды. В соответствие с данной целью решались следующие задачи:

- проанализировать многолетние данные по качественному и количественному составу гетеротрофных, санитарно-показательных и условно-патогенных микроорганизмов;
- оценить отклик микробных сообществ исследуемых акваторий на изменение абиотических факторов среды (температуры, солености, ОВ, биогенов);
- осуществить выбор микробиологических параметров в качестве индикаторов состояния водных экосистем.

В период с 1998 по 2010 гг. нами были проведены исследования ВМ Кольского залива и пресных водоемов Мурманской области.

Численность гетеротрофных бактерий, способных к росту на питательных средах, является важным показателем, причем не в абсолютном, а в относительном исчислении. Соотношение между общей численностью микроорганизмов (по данным прямого счета) и численностью гетеротрофных бактерий (по данным посева) предложено исполь-

зовать для оценки степени трофности пресноводных водоемов; его принято называть коэффициентом Разумова. Впоследствии было предложено использовать для удобства обратное соотношение – Ки.

Величина Ки может характеризовать физиологическое состояние микробного ценоза в данный период времени, определяющееся конкретной гидролого-гидрохимической ситуацией. Высокая величина индекса Ки, тесно связанного с условиями среды обитания микроорганизмов, соответствует состоянию «молодой» экосистемы, свидетельствует о высоких темпах размножения гетеротрофных бактерий, что имеет место при благоприятных условиях для их развития и, в первую очередь, обилии лабильного ОВ в водной среде (рис. 1) [1, 2].

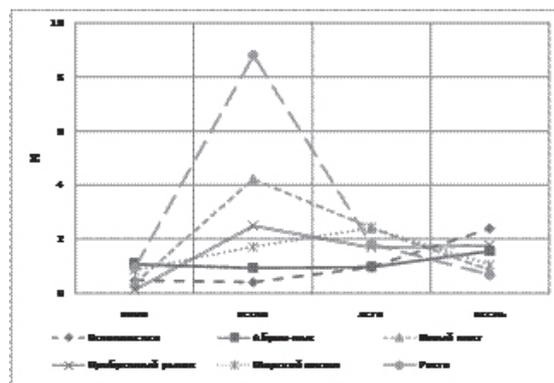


Рис. 1. Сезонная динамика Ки в ВМ Кольского залива

Соответственно в районах, менее подверженных антропогенному влиянию, размах колебаний Ки меньше, и колебания не такие резкие. Изучая Ки, уместно гово-

речь не только о загрязнении водных масс, но и об уровне активных микробных клеток в составе бактериального сообщества [2].

Определение доли гетеротрофных бактерий в ВМ Кольского залива, растущих на питательных средах при разных температурах (4, 22, 37 и 55°C), от общего количества бактерий по прямому счету показало, что количество микроорганизмов, учтенное при температуре 4°C и 22°C, отличалось незначительно от результатов, полученных прямой микроскопией ($K_{и^{4^{\circ}C}} - 8,5\%$ и $K_{и^{22^{\circ}C}} - 9,3\%$), а количество микробов, учтенное при температурах 37°C и 55°C, отличалось от общего числа бактерий значительно ($K_{и^{37^{\circ}C}} - 0,78\%$, $K_{и^{55^{\circ}C}} - 0,057\%$). $K_{и}$ может свидетельствовать о степени гетерогенности микробного сообщества, о сезонных сукцесси-

онных процессах. Значительная доля в микробном сообществе приходится на психрофильные и мезофильные бактерии, а следовательно, при мониторинге следует использовать комплексный подход с применением метода прямого счета и посева на питательные среды при температурах 4, 22 и 37°C [6]. Исследование физиологических групп гетеротрофных бактерий в водах бассейна Кольского залива показало увеличение численности евтрофных микроорганизмов по мере повышения температуры воды. Помимо наличия общего пространственно-временного тренда, по результатам исследований существовала корреляция между температурой и численностью олиготрофных и евтрофных бактерий, составляя в среднем 0,78 и 0,74 соответственно.

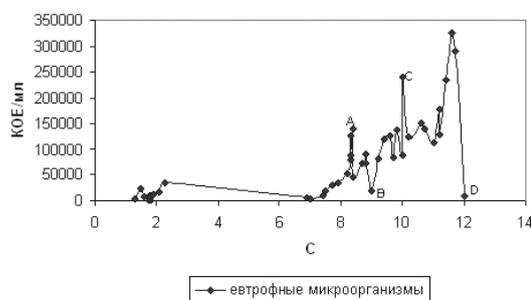


Рис. 2. Зависимость численности евтрофных микроорганизмов от температуры

Численность бактерий экспоненциально возрастает по мере увеличения температуры и описывается уравнением $Y = a \cdot \exp(b \cdot x)$, $a=5597,258$, $b=0,30483$. Коэффициенты обусловлены действием определенных гидрохимических факторов

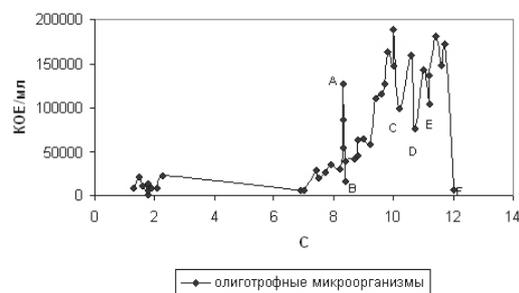


Рис. 3. Зависимость численности олиготрофных микроорганизмов от температуры

и уместны для конкретного района исследования [4].

К гидрохимическим параметрам, влияющим на численность гетеротрофных микроорганизмов, относится соленость (рис. 4 и 5). Результаты расчета коэффициента кор-

реляция между исследуемыми параметрами (соленостью и численностью гетеротрофных бактерий) показали существование зависимости, описываемой регрессионным уравнением:

$Y=a+b \cdot x^2$. Численность бактерий уменьшается в соответствии с повышением солености: когда соленость достигает более 20‰, то численность бактерий стремится к нулю [5].

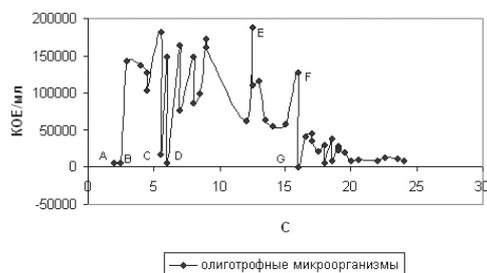


Рис. 4. Зависимость численности олиготрофов от солености



Рис. 5. Зависимость численности евтрофов от солености

К факторам среды, оказывающим наиболее существенное влияние на численность бактерий, можно также отнести химические параметры среды. Корреляционный анализ зависимости количества гетеротрофных бактерий в реке Кола (пресный водоем) продемонстрировал прямую связь численности евтрофов с нитратами (-0,8), сухим остатком (-0,7) и положительную связь с БПК (от 0,6 до 0,85), концентрацией аммонийного азота (0,72), олиготрофов – с перманганатной окисляемостью (0,83), концентрацией солевого аммония (0,8).

Поэтому для более полной характеристики состояния трофности экосистемы необходимо учитывать количество бактерий обеих учетных групп в комплексе. Нам представляется целесообразным использовать некий коэффициент Кт – отношение количества евтрофных бактерий к олиготрофным, который довольно точно характеризует

состояние бактериального сообщества. Чем меньше коэффициент, тем благополучнее система. Если Кт больше единицы, то система находится под мощным антропогенным прессом, количество аллохтонного вещества (а значит, и евтрофных микроорганизмов) настолько велико, что жизнедеятельность естественного олиготрофного микробного сообщества сильно подавляется. Кт, изученный для водных масс Кольского залива и реки Кола на протяжении нескольких лет, демонстрирует неоднозначную картину. Так было показано [2], что Кт, больший или равный единице, свидетельствует о серьезной дестабилизации бактериоценоза. Разнонаправленные флуктуации Кт при общем его снижении могут указывать на то, что бактериоценозы находятся в нестабильном состоянии, когда в зависимости от внешних факторов неустойчивый баланс между олиготрофами и евтро-

фами резко отклоняется в ту или иную сторону. Очевидно, что баланс может быть достигнут только при ослаблении антропогенной нагрузки [2]. Кт может быть использован для оценки стабильности экосистемы, а также для прогнозирования ситуации в данном водоеме.

Для оценки уровня трофности экосистемы была прослежена изменчивость температурного коэффициента K_m – отношение числа колоний, выросших на питательной среде при температуре 37°C , к числу колоний, выросших при температуре 20°C . Обе группы микроорганизмов евтрофные, но при более высокой температуре (и за более короткое время) растут в большей мере бактерии аллохтонные. Соответственно, чем более K_m приближается к единице, т.е. чем более сближаются численности той и другой группы, тем более ВМ загрязнены аллохтонным ОВ биологического происхождения. Снижение K_m до 0,25 наблюдается в чистых водах либо имеющих загрязнение иного, небактериального характера. На станциях южного колена залива K_m намного превышает единицу, станции северного колена занимают промежуточное положение, но коэффициент здесь также достаточно высок для того, чтобы охарактеризовать эти районы как загрязненные [2].

В целом значения K_m в водах Кольского залива близки к критическим, что говорит о высокой степени трофности системы, несмотря на тенденцию к некоторому

улучшению ситуации. Закономерности изменчивости K_m на всех станциях единой образны, и динамика данного показателя согласуется с динамикой речного стока и не зависит от температуры. В этой связи считаем целесообразным применять данный коэффициент в качестве информативного индикатора при мониторинге [2].

При изучении морфологических групп гетеротрофных бактерий водных биоценозов Кольского залива был выявлен их характерный отклик на антропогенное загрязнение, выражаемый в постоянстве превышения в загрязненных водах количества граммотрицательных микроорганизмов (до 80 %) над грамположительными. В мало загрязненных районах Кольского залива в бактериальных сообществах стабильно доминировали грамположительные формы (60-80 %). Палочковидные микроорганизмы чаще встречались в более загрязненных районах (60–70 %), а следовательно, участвовали в процессах очищения водоемов. Кокковые и прочие формы бактерий стабильно преобладали в мало загрязненных водных объектах. Таким образом, пространственно-временная изменчивость морфологических групп гетеротрофных бактериальных сообществ водных экосистем может являться показателем, используемым для оценки их санитарного и экологического состояния [1]. Для пресных водоемов была выведена несколько отличная от солоноватых ВМ тенденция соотношения морфологических

групп гетеротрофов, однако она была также достаточно показательна.

При изучении бактериальных сообществ более высокий индекс биоразнообразия отмечен в районах, где для развития микроорганизмов имеются более благоприятные условия, связанные с обилием питательных веществ. Изменчивость индекса биоразнообразия бактериального сообщества по Шеннону можно использовать и в качестве индикатора экологического и санитарного состояния водной экосистемы. Более высокий индекс биоразнообразия гетеротрофных бактерий характерен для загрязненных районов водоема [1].

В результате изучения видового состава бактерий Кольского залива определено, что в загрязненных зонах залива преобладают (до 60%) грамотрицательные микроорганизмы, представленные бактериями родов *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*. Грамположительные палочки и кокки составили 28–30% и представлены родами *Bacillus*, *Micrococcus* и *Enterococcus*. Наиболее часто встречаются бактерии рода *Pseudomonas*, являющиеся санитарно-показательными бактериями и чувствительными индикаторами загрязнения северных водоемов [6].

Также следует добавить, что при существующей периодичности загрязнения водных экосистем нефтяными углеводородами необходимо включать в состав мониторинга выявление и исследование нефте-

окисляющих бактерий, их углеводородоксилирующей способности. Необходимым является изучение и сравнение эпифитных и планктонных бактерий и бактериобентоса.

Таким образом, в качестве индикаторов экологического и санитарного состояния водных экосистем, оценки их трофности и функционирования микробного сообщества, а также при выполнении комплексного мониторинга рекомендовано следующее:

1) использовать не абсолютные количественные микробиологические показатели, а их относительные значения, выраженные индексами Ки, Кт, Км;

2) учитывая чувствительность Ки к температурному фактору, следует регистрировать Ки при разных температурах и определять $K_{i^{4^{\circ}C}}$, $K_{i^{22^{\circ}C}}$, $K_{i^{37^{\circ}C}}$;

3) в качестве дополнительной характеристики водных экосистем вести учет пространственно-временной изменчивости морфологических групп (палочки/кокки/другие формы и грамположительные/грамотрицательные) и физиологических групп (олиготрофных/евтрофных) гетеротрофных микроорганизмов;

4) для получения более объемной картины мониторинга вычислять индексы видового биоразнообразия гетеротрофных микробных сообществ;

5) с целью контроля санитарного состояния акватории вести учет микроорганизмов родов *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*.

Список литературы

1. Богданова О.Ю. Пространственно-временная изменчивость гетеротрофных бактериальных сообществ воды литорали Кольского залива: дис. ... канд. биол. наук. – М., 2003. – 150 с.
2. Богданова О.Ю. Пространственно-временная изменчивость количества олиготрофных и евтрофных микроорганизмов в воде литорали Кольского залива: материалы XV Межд. экол. конф. «Эко-2009» / О.Ю. Богданова, Е.В. Макаревич, Е.С. Мищенко. – М., 2009. – 5 с.
3. Доклад Госкомитета по охране окружающей среды Мурманской обл. – Мурманск, 2009. – 120 с.
4. Макаревич Е.В. Влияние температуры воды на распределение евтрофных и олиготрофных микроорганизмов Кольского залива // Современные проблемы экологии: докл. Всерос. НТК / Е.В. Макаревич, А.Н. Новикова, О.Ю. Богданова, Е.С. Мищенко. – М.; Тула: Изд-во «Инновационные технологии», 2009.

5. Новикова А.Н. Влияние солености на структуру гетеротрофного бактериопланктона Кольского залива // Современные проблемы экологии: докл. Всерос. НТК / А.Н. Новикова, О.Ю. Богданова, Е.В. Макаревич, Е.С. Мищенко. – М.; Тула: Изд-во «Инновационные технологии», 2009.

6. Перетрухина А.Т. Микробиологический мониторинг водных экосистем Кольского Заполярья: дис. ... д-ра биол. наук. – Мурманск: МГТУ, 2002. – 245 с.

Рецензенты:

Пахомова Н.А., к.б.н., доцент кафедры биоэкологии Мурманского государственного технического университета;

Журавлева Н.Г., д.б.н., профессор, ведущий научный сотрудник Мурманского морского биологического института Кольского научного центра РАН.

WORKING OUT OF MICROBIOLOGICAL MONITORING OF KOLA BAY WATER ECOSYSTEMS METHODOLOGY

**Peretrukhina A.T., Bogdanova O. J., Makarevich E.V., Mishchenko E.V.,
Novikova A.N**

*Murmansk State Technical University, Russia, Murmansk,
e-mail: peretruchinaat@mail.ru*

On the basis of long-term researches of complex Kola bay water the methodology ecosystems microbiological monitoring in response to changing abiotic characteristics of aquatic environments was developed in this work. The long term data of the microbial communities structure of the Kola Bay waters including qualitative and quantitative structure of heterotrophic, sanitary-indicative and conditional-pathogenic microorganisms was analyzed. The reaction of the microbial communities of the investigated areas to change in dependence of the abiotic environmental factors (temperature, salinity, organic substances, biogenes) was researched. Microbiological parameters as indicators of a condition of water ecosystems are picked up in this research.

Keywords: Kola Bay, pollution indicators, bacteria-plankton, sanitary-indicative microorganisms, relative-pathogenic bacteria, oligotrophic organism, eutrophic organism