

Д.Д. Цыренова, Д.Д. Бархутова, В.П. Гаранкина, Б.Б. Намсараев

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ ОЗЕРА КОТОКЕЛЬСКОЕ И СПОСОБ ЕГО ОЧИСТКИ***Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ)*

*В озере Котокельское при исследовании качества воды были обнаружены цианобактерии, образующие токсины, опасные для здоровья людей и животных. По содержанию хлорофилла *a* в воде озера Котокельское можно отнести к эвтрофным водоемам с высокой продуктивностью фитопланктона, по микробиологическим показателям, таким, как общая численность микроорганизмов и численность сапрофитов, — к «загрязненным водам». Препарат «Байкал ЭМ 1» активно участвует в процессах самоочищения воды, о чем свидетельствуют данные по снижению содержания хлорофилла в водной толще аквариума и уменьшения общей численности микроорганизмов.*

**Ключевые слова:** оценка качества воды, токсинообразующие цианобактерии, хлорофилл *a*, общая численность бактерий, эвтрофные водоемы

**MICROBIOLOGICAL ASSESSMENT OF WATER QUALITY OF LAKE KOTOKELSKOE AND METHOD OF ITS PURIFICATION**

D.D. Tsyrenova, D.D. Barkhutova, V.P. Garankina, B.B. Namsarayev

*Institute of general and experimental biology SB RAS, Ulan-Ude*

*During assessment of water quality in the lake Kotokelskoe, we observed some cyanobacteria that forming harmful to human and animal toxins. According to the chlorophyll *a* content, the lake Kotokelskoe is eutrophic with high productivity of phytoplankton. But microbiological parameters such as total number of microorganisms and saprophytes cause to classify this lake as «polluted waters». Preparation «Baikal EM 1» is actively involved to the processes of self-purification of water. It could provide decreasing of chlorophyll content total number of microorganisms in aquarium water.*

**Key words:** assessment of water quality, toxic cyanobacteria, chlorophyll *a*, total number of bacteria, eutrophic water bodies

В последние десятилетия уделяется большое внимание антропогенному эвтрофированию поверхностных вод, следствием которого является изменение биоты, направленность и интенсификация процессов, бурное развитие водорослей, известное как «цветение воды». Гиперпродукция фитопланктона приводит к накоплению органического вещества в водоеме, ухудшению качества воды и образованию токсинов, опасных для здоровья людей и животных.

Объектом исследования являлось озеро Котокель — одно из крупных озер в Прибайкалье и имеющее рекреационное значение. В данном озере в период с июля по сентябрь во время бурного развития фитопланктона, вызывающего «цветение воды», ежегодно регистрируется массовая гибель рыб, а затем заболевания населения, диагностируемые как синдром алиментарно-токсической пароксизмальной миоглобинурии.

Известно, что во всем мире широко используются микробиологические препараты для повышения плодородия почвы и очистки вод [1, 6]. Микробные препараты нового поколения отличаются сложным качественным и количественным составом и комплексностью действия на различные биотопы, экосистемы. Микробиологический концентрат «Байкал ЭМ 1» — устойчивый симбиоз молочнокислых, фотосинтезирующих, азотфиксирующих бактерий и дрожжей. Также в состав препарата входят биологические активные компо-

ненты микробного происхождения. При очистке водоемов, промышленных и бытовых стоков на очистных сооружениях были получены положительные результаты при применении препарата «Байкал ЭМ 1» [1].

**Целью** нашего исследования являлось оценка качества воды озера и его очистка. В задачи входило определение видового состава цианобактерий, численности бактерий-деструкторов органического вещества и использование микробиологического препарата «Байкал ЭМ 1» для очистки воды озера.

**ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Микробиологические исследования воды озера Котокельское были проведены с мая по август 2009 г. на 3 станциях — юг (№ 1), центр (№ 2) и север (№ 3).

Для определения видового состава цианобактерий пробы микроскопировали с помощью микроскопа Axiostar plus (Carl Zeiss, Германия) в проходящем свете и с иммерсией при увеличении 1000 — 1250. Определение таксономической принадлежности цианобактерий на основании морфологических признаков проводили по Голлербаху, Еленкину [2, 3].

При изучении биологической продуктивности водоемов широко используется определение содержания фотосинтетических пигментов в планктоне. По концентрации хлорофилла *a* можно судить об общей биомассе и о продукции фитопланктона.

Определение содержания хлорофилла в планктоне, во-первых, позволяет выражать биомассу фитопланктона в абсолютных весовых единицах одного из важнейших компонентов клетки фотосинтетиков, во-вторых, открывает новые возможности изучения первичной продукции, так как содержание хлорофилла *a* закономерно связано со скоростью новообразования органического вещества в процессе фотосинтеза. Поэтому определение содержания хлорофилла *a* можно считать наиболее общим показателем фотосинтетической активности фитопланктона. Определение данного пигмента состояло из двух этапов: фиксация проб и определение ее концентрации. Для фиксации хлорофилла *a* 20 мл исследуемой воды пропускали через мембранный фильтр «Millipore». Экстракцию проводили 5–10 мл 96-м этиловым спиртом. Экстракты центрифугировали в течение 10 минут при 3000 об/мин.

Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре Shumadsu (Япония) при длине волн от 400 до 1000 нм. Расчет содержания хлорофилла рассчитаны по формуле:

$$C_{\text{хл а}} = 16,29 \times \text{ОП}_{665} - 8,54 \times \text{ОП}_{652}, \text{ мкг/мл} \quad (1)$$

$$C = (C_{\text{хл а}} \times V \times l \times 1) / V_{\text{обр}}, \text{ мкг/мл} \quad (2)$$

где  $C_{\text{хл а}}$  – концентрация хлорофилла *a*, рассчитанная по (1) формуле,  $V$  – объем растворителя, мл;  $V$  – объем образца (20 мл), мл;  $l$  – толщина кюветы, см.

Общую численность бактерий (ОЧМ) определяли методом Разумова на мембранных фильтрах [4]. Для этого 5 мл воды (1 мл ила) отфильтровывали через мембранный фильтр, фиксировали и окрашивали 2,5%-м эритрозинном. Подсчет вели под микроскопом с иммерсионным объективом с увеличением 90, при окуляре с сетчатым микрометром с увеличением 10. Просчитывали 10 полей зрения, подсчет кокков и палочек велся одновременно. Численность аэробных сапрофитов определяли подсчетом колоний, выросших в чашках Петри в течение 3 суток при температуре 30 °С, при глубинном посеве проб на среду РПА. Учет численности целлюлозоразлагающих бактерий вели на среде Пфеннига [5].

Лабораторный эксперимент по изучению влияния препарата «Байкал ЭМ 1» на микробиологические показатели воды озера был проведен на пробах воды и донных осадков в аквариумах, отобранных 26 августа 2009 г. Препарат «Байкал ЭМ 1» был предоставлен компанией НПО «Эм-центр». Эксперимент состоял из четырех вариантов: 1. Вода (контроль); 2. Вода + «Байкал ЭМ 1» (опыт); 3. Придонная вода – вода + донный осадок (контроль); 4. Придонная вода – вода + донный осадок + «Байкал ЭМ 1» (опыт). Опыт проводили в четырехкратной повторности. Концентрат препарата «Байкал ЭМ 1» был внесен в количестве 1 : 1000, рН препарата 3,4. Второе внесение препарата «Байкал ЭМ 1» произведено 21 сентября 2009 г. (в количестве 1 : 1000).

Высота столба воды в аквариумах (без ила) 17 см; придонной воды 10 см (ил – 7 см). Освещение естественное, температура – комнатная (18–20 °С). Характеристика исходной воды: цвет – слабо желтой окраски, запах не ощущается, мутность – слабо опалесцирующая, прозрачность – 7 см. Характеристика донного осадка: цвет – зеленовато-коричневый, мелкодисперсный, пластичный, запах землистый.

В начале эксперимента значения рН были равны:

1. Вода (контроль) – 7,16;
2. Вода + «Байкал ЭМ 1» (опыт) – 7,13;
3. Придонная вода – вода + донный осадок (контроль) – 6,36;
4. Придонная вода – вода + донный осадок + «Байкал ЭМ 1» (опыт) – 6,56.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

В планктоне озера определен видовой состав цианобактерий на основании морфологических признаков. Всего в исследованных пробах обнаружено 8 разновидностей и формы цианобактерий: *Microcystis aeruginosa*, *Synechococcus cedrorum* Sauv., *Cloeocapsa minor*, *Calotrix elenkin*, *Phormidium frigidum*, *Ph. woronochinii*, *Ph. fovelarum*, *Limnotrix* sp.

Видовой состав и процентное соотношение цианобактерий озера Котокельское Таблица 1

Таксон	Соотношение, %				
	06.05.09	06.07.09	27.07.09	07.08.09	25.08.09
<i>Microcystis aeruginosa</i> Kütz. emend Elenk.	50	50	70	40	70
<i>Synechococcus cedrorum</i> Sauv.	10	–	–	–	–
<i>Cloeocapsa minor</i> (Kütz.) Hollerb. Ampl.	5	–	–	–	–
<i>Calotrix elenkin</i> Kossinsk.	15	20	20	30	30
<i>Phormidium frigidum</i> Fritsch.	5	–	–	–	–
<i>Ph. woronochinii</i> Anissimova sp. nov.	5	–	–	15	–
<i>Ph. fovelarum</i> (Mont.) Gom.				15	–
<i>Limnotrix</i> sp.	10	30	–	–	–

Примечание: «–» – таксон не обнаружен.

Наибольшее их разнообразие зарегистрировано в мае. Видовой состав цианобактерий и их соотношение представлены в таблице 1.

Одноклеточные цианобактерии были представлены видами *Microcystis aeruginosa*, *Synechococcus cedrorum* и *Cloeocapsa minor*, все остальные виды являлись нитчатными. По разнообразию видового состава следует выделить род *Phormidium* (3 вида), остальные роды представлены единично.

В период исследований доминирующим видом среди цианобактерий в планктоне являлась одноклеточная цианобактерия *Microcystis aeruginosa* (50 – 70%). Часто встречались виды *Calotrix elenkin*, *Limnотrix* sp. и *Synechococcus cedrorum*, количество которых варьировало от 10 до 15 % в мае. В июле планктонные цианобактерии были представлены *Microcystis aeruginosa*, *Calotrix elenkin*, *Limnотrix* sp., соотношение которых менялось. Данные виды в литературе рассматриваются как токсинообразующие [6].

Содержание хлорофилла *a* в планктоне озера варьировало от 109,4 до 172,3 мкг/л). Максимум содержания хлорофилла *a* выявлен в начале августа, что связано с повышением температуры воды. В этот же период наблюдается наибольшая концентрация кислорода в воде и уменьшение прозрачности воды в озере, что обусловлено интенсивным развитием фитопланктона. В июле содержание хлорофилла *a* выше в южной части озера по сравнению с центром. В то же время в конце августа, его содержание примерно одинаково по акватории озера (рис. 1).

Концентрация хлорофилла используется для определения трофности водоема. По содержанию хлорофилла *a* в воде (109,4 – 172,3 мкг/л) озеро Котокельское можно отнести к эвтрофным водоемам с высокой продуктивностью фитопланктона. Причем, озеро остается эвтрофным в течение всего летнего периода. Высокая продуктивность озера связана с летним прогреванием водной толщи, присутствием и доступностью биогенных элементов.

В воде и донных осадках озера были определены общее микробное число и численность некото-

рых физиологических групп бактерий-деструкторов органического вещества. В водной толще озера общая численность микроорганизмов варьировала от 1,4 млн. кл/мл до 3,6 млн. кл/мл. На станции № 1 (юг) максимальная численность выявлена в июле, тогда как на станции № 2 (центр) – в августе, на станции №3 (север) – в мае.

В донных отложениях ОМЧ была на порядок выше и достигала значений 23.9 – 67.8 млн. клеток в 1 мл осадка. Наиболее высокая численность бактерий-деструкторов выявлена в июле – августе на всех исследуемых станциях, что связано с повышением температуры воды и их активной деятельностью в этот период.

В водной толще количество целлюлозоразлагающих бактерий не превышало 10 кл/мл на центральном и северном станциях. На южной станции количество целлюлолитиков достигало 100 клеток в 1 мл. В донных осадках их количество изменялось от 100 до 10000 клеток/мл. Наибольшее количество микроорганизмов – деструкторов, использующих целлюлозу в качестве субстрата, обнаружено на станции №1.

Сапрофитные микроорганизмы являются важным показателем в оценке качества воды и ее самоочищении. Число сапрофитов коррелирует с количеством легкоусвояемого органического вещества. Изменение этого числа является одним из чувствительных показателей повышения трофности водоемов. Сапрофитные бактерии, достигали максимальных значений в июле в донных осадках на южной станции и были равны 67 тыс. клеток в 1 мл ила. Наименьшее их количество обнаружено в донных осадках на северной станции в количестве 100 клеток в 1 мл. В воде количество сапрофитов варьировало от 1200 до 8300 клеток. Наиболее активная деятельность сапрофитных микроорганизмов наблюдается в августе.

В результате проведенного эксперимента с применением препарата «Байкал Эм 1» было показано, что при внесении данного препарата в воду значения рН в опытных образцах становятся ниже, чем в контроле. А в эксперименте с придонной водой

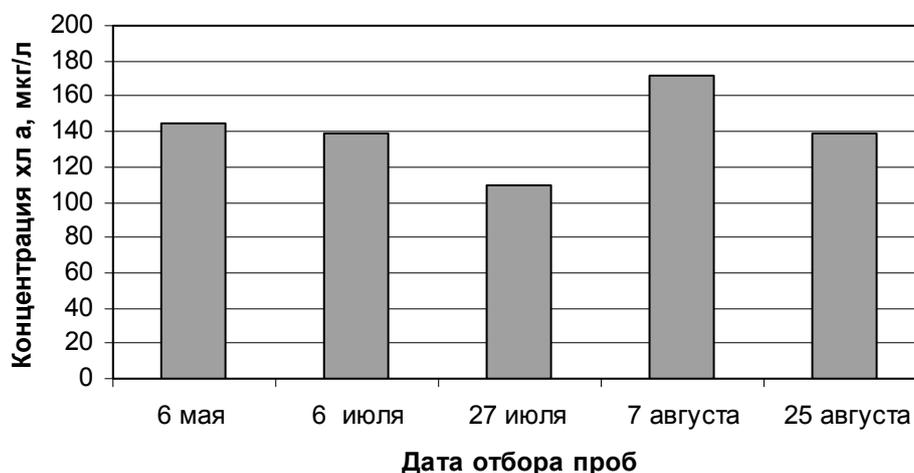


Рис. 1. Содержание хлорофилла в акватории озера (мкг/мл).

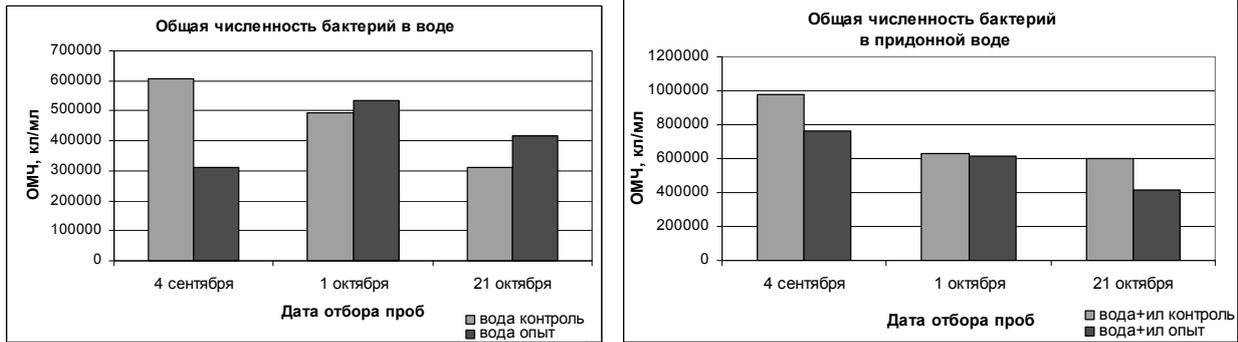


Рис. 2. Общая численность бактерий в воде.

(вода + донные осадки) не наблюдается резких изменений в величине рН по сравнению с контролем.

Измерение концентрации растворенного кислорода в воде (12 октября и 5 ноября) показало, что его содержание достигает в контроле 7,5 и 6,48 мг/л, в опыте — 6,88 и 6,33. В придонной воде концентрация кислорода была ниже и достигала значений 5,18 и 5,53 мг/л в контроле и 4,45 и 5,15 — в опыте.

Общая численность бактерий в воде возрастает от 300000 до 530 000 кл/мл в опытных пробах (рис. 2). Максимум их численности наблюдается в опыте через месяц. В контрольных пробах наблюдается постепенное уменьшение их численности. В придонных водах опытной партии наблюдается уменьшение численности бактерий, как в опыте, так и в контроле.

Численность сапрофитных микроорганизмов в воде возрастала от 43250 кл/мл в контроле до 124333 кл/мл в течение недели, а в опытных образцах их численность выросла от 42750 до 455000 кл/мл.

Через две недели численность сапрофитов достигала 348000 кл/мл в воде с добавлением препарата, в то время как их количество в контроле составляло 231667 кл/мл. Эти результаты показывают, что добавление препарата «Байкал ЭМ 1» стимулирует деструкцию органического вещества до легкоусвояемых форм, о чем свидетельствует активное развитие сапрофитных бактерий. В придонной воде численность сапрофитных бактерий увеличивается равномерно как в контроле, так и в опытных образцах. Более заметный рост численности бактерий наблюдается через 2 недели после начала эксперимента. В контроле количество сапрофитных бактерий увеличивается от 19750 кл/мл до 32500 в течение 1 недели и до 256500 кл/мл в течение 2 недель, в опыте — от 17750 до 42750 и 240330 кл/мл соответственно.

Содержание хлорофилла в аквариумах было определено в конце сентября. Результаты показывают, что содержание хлорофилла в начальный период в воде, как в опыте, так и контроле достигает

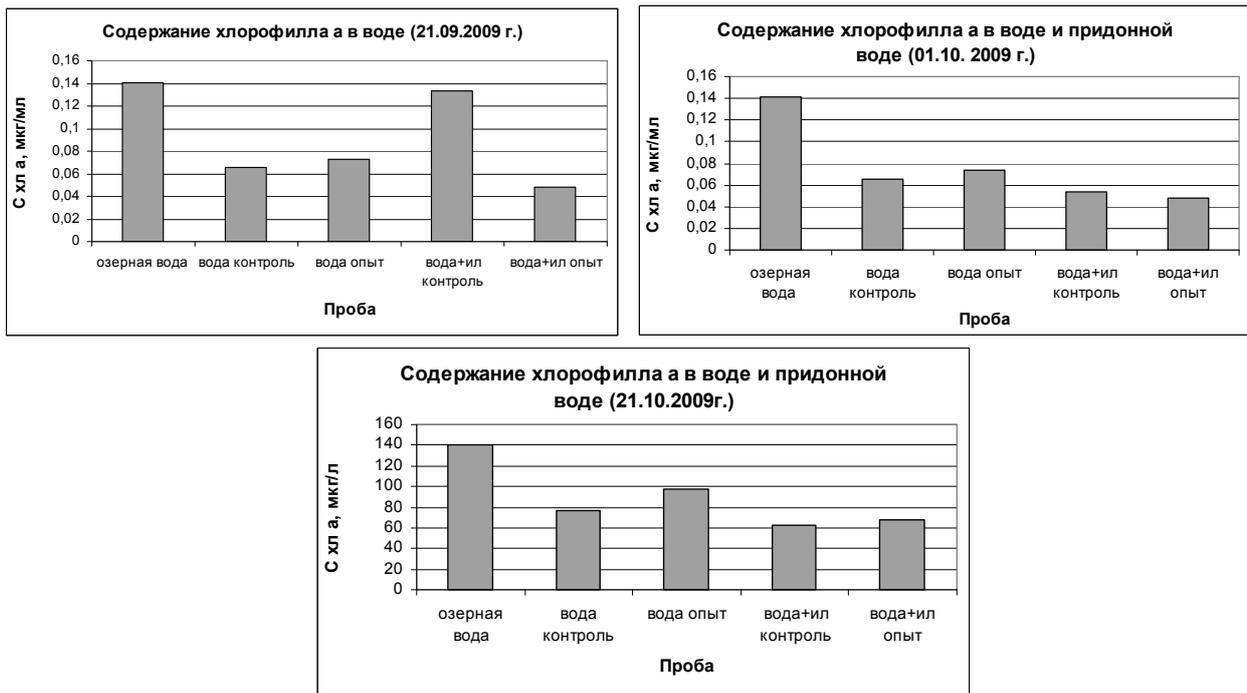


Рис. 3. Содержание хлорофилла в воде.

140 – 160 мкг/л. При таких значениях хлорофилла *a* воды считаются эвтрофными. Затем их содержание заметно снижается. В конце октября их количество составляет 80 – 96 мкг/л (рис. 3).

Таким образом, в микробном мате озера Котокельское обнаружены представители токсинообразующих видов цианобактерий, которые возможно являются причиной замора рыб и заболевания людей. По содержанию хлорофилла *a* в воде озера Котокельское можно отнести к эвтрофным водоемам с высокой продуктивностью фитопланктона, по микробиологическим показателям (общая численность микроорганизмов и численность сапрофитов) – к «загрязненным водам». Влияние микробиологического препарата «Байкал ЭМ 1» в контролируемых условиях проявляется в течение первого месяца опыта. Препарат активно участвует в процессах самоочищения воды, о чем свидетельствуют данные по снижению содержания хлорофилла в водной толще аквариума и уменьшения общей численности микроорганизмов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 10-04-01185-а, № 1204-98081-р\_сибирь\_а, Интеграционных грантов № 5 и № 94.*

#### Сведения об авторах

**Цыренова Дулма Доржиевна** – к.б.н., м.н.с. ИОЭБ СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: (924)6537048)  
**Бархугова Дарима Дондоковна** – к.б.н., с.н.с. ИОЭБ СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: (924)6502073)  
**Гаранкина Валентина Петровна** – к.б.н., инж. ИОЭБ СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6)  
**Намсараев Баир Бадмабазарович** – д.б.н., проф., зав. лабораторией микробиологии ИОЭБ СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6)

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Колмаков В.И. Методы предотвращения массового развития цианобактерии *Microcystis aeruginosa* Kutz emend. Elenk. в водных системах // Микробиология. – 2006. – Т. 75, № 2. – С. 149 – 153.
2. Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов. – М.: Наука, 1989. – 286 с.
3. Методы гидрохимических исследований основных биогенных элементов. – М.: ВНИРО, 1988. – С. 69 – 77.
4. Микробиологические препараты «Байкал ЭМ 1», «Тамир», «ЭМ-курунга» // Практическая биотехнология в сельском хозяйстве, экологии, здравоохранении: Сб. тр. – М.: Изд-во «Агрорус», 2006. – 307 с.
5. Определитель пресноводных водорослей СССР. Сине-зеленые водоросли / М.М. Голлербах, Е.К. Косинская, В.И. Полянский. – М.: Советская наука, 1953. – Вып. 2. – 385 с.
6. Синезеленые водоросли СССР / А.А. Еленкин. – М. – Л.: Изд-во АН СССР, 1949. – Вып. 2. – С. 990 – 1907.