

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное агентство по образованию
Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова

Г.В. Кондакова

Биоиндикация. Микробиологические показатели

Учебное пособие

Рекомендовано

*Научно-методическим советом университета
для студентов, обучающихся по специальности Экология
и направлению Экология и природопользование*

Ярославль 2007

УДК (57+681.2.085):579

ББК Е081я73

К 64

Рекомендовано

*Редакционно-издательским советом университета
в качестве учебного издания. План 2007 года*

Рецензенты:

д-р биол. наук, профессор кафедры агрохимии
МГУ им. М.В. Ломоносова Н.В. Верховцева;
кафедра биологии почв Московского государственного
университета им. М.В. Ломоносова

Кондакова, Г.В. Биоиндикация. Микробиологические показатели: учеб. пособие / Г.В. Кондакова ; Яросл. гос. ун-т. — Ярославль: ЯрГУ, 2007. — 136 с.
ISBN 978-5-8397-0577-7

В пособии изложены общие вопросы, касающиеся биологического мониторинга и биоиндикации, а также специальные, рассматривающие микробиологические показатели оценки состояния различных природных сред: водной, почвенной, воздушной.

Предназначено для студентов, обучающихся по специальности 020801 Экология и направлению 020800 Экология и природопользование (дисциплина "Биоиндикация", блок ДС, СД), очной и заочной форм обучения. Может быть использовано не только студентами, но и аспирантами и научными сотрудниками, специализирующимися в области охраны окружающей среды.

Рис. 9. Табл. 24. Библиогр. 90

УДК (57+681.2.085):579

ББК Е081я73

ISBN 978-5-8397-0577-7

© Ярославский
государственный
университет, 2007
© Г.В. Кондакова, 2007

Введение

Возрастающее внимание к проблеме охраны природы обусловило необходимость совершенствования методов диагностики состояния окружающей среды и ее защиты. В связи с этим актуальным и перспективным является расширение биоиндикационного направления в мониторинге состояния природных объектов. На XXI Общей ассамблее Международного союза биологических наук (Оттава, 1982) была выработана программа «Биоиндикаторы», среди основных принципов которой указаны такие, как создание сети подготовки специалистов по биоиндикации и расширение сети биоиндикаторных исследований при мониторинге окружающей среды. В связи с этим преподавание в вузах дисциплин биоэкологического цикла невозможно без акцентирования внимания студентов, профессиональная деятельность которых будет связана с природоохранной сферой, на различных аспектах использования живых организмов в качестве индикаторов состояния окружающей среды и для определения биологически значимых нагрузок на экосистемы.

Дисциплина «Биоиндикация» входит в блок специальных дисциплин специальности 020801 Экология и дисциплин специализации направления 020800 Экология и природопользование. Целью преподавания дисциплины является формирование у слушателей представлений о реакциях живых организмов на действие стрессовых факторов среды и их использовании в экологических исследованиях, что является весьма важным для подготовки специалистов экологического профиля.

Настоящее пособие охватывает лишь часть курса, читаемого студентам-экологам, и касается использования микроорганизмов в качестве индикаторов состояния окружающей среды. Микробиологические показатели сгруппированы отдельно для каждой из природных сред: водной, почвенной и воздушной, в отдельной главе описаны микробиологические индикаторы санитарного состояния окружающей среды. В пособии рассматриваются харак-

теристики микробоценозов и их отдельных компонентов, свойственные ненарушенным природным средам, их изменения при антропогенном воздействии, а также возможность использования отдельных микробиологических показателей в целях нормирования допустимой нагрузки на экосистемы.

Основными задачами данной части курса являются: овладение основами знаний об использовании живых организмов в качестве индикаторов состояния окружающей среды; понимание преимуществ и сложностей использования биоиндикаторов; знакомство с одним из первых уровней биоиндикации на примере параметров функционального состояния микробных сообществ и их изменений при антропогенных стрессовых нагрузках; изучение теоретических основ определения различных видов загрязнения природных и техногенных систем по индикаторным микроорганизмам; умение оценивать качество окружающей среды по результатам исследований в соответствии с установленными нормативами.

Приобретенные знания могут быть использованы студентами при изучении смежных дисциплин экологического цикла, а также при выполнении курсовых и дипломных работ.

Глава 1

Биологический мониторинг и биоиндикация

1.1. Определение понятий «биологический мониторинг», «биоиндикация», «биоиндикаторы»

При проведении экологических исследований основное внимание должно уделяться накоплению, систематизации и анализу информации о характере взаимоотношений между живыми организмами и средой их обитания. На основе этой информации можно решать следующие задачи:

- проводить оценку состояния различных экосистем;
- выявлять причины наблюдаемых и вероятных структурно-функциональных изменений биотических компонентов и осуществлять адресную индикацию источников и факторов негативно-го внешнего воздействия;
- давать прогноз устойчивости экосистем и допустимости изменений и нагрузок на среду в целом;
- оценивать существующие резервы биосферы и тенденции в их исчерпании (накоплении) (Шитиков В.К. и др., 2003).

Способ познания, основанный на относительно длительном целенаправленном и планомерном восприятии предметов и явлений окружающей действительности, издавна применялся в различных видах научной и практической деятельности человека. Однако термин «мониторинг» впервые был введен только в 1972 г. перед проведением Стокгольмской конференции ООН по охране окружающей среды. Под *мониторингом* (от англ. monitor – наблюдение) было решено понимать систему непре-

рывного наблюдения, измерения и оценки состояния окружающей среды. Наиболее полным можно считать следующее определение.

Мониторинг окружающей среды – комплексная система наблюдений, оценки и прогноза изменений природных сред, природных ресурсов, растительного и животного мира, позволяющие выделить изменения их состояния и происходящие в них процессы под влиянием антропогенной деятельности [Калужский государственный..., URL].

Поскольку сообщества живых организмов замыкают на себя все процессы, протекающие в экосистеме, ключевым компонентом мониторинга окружающей среды является мониторинг состояния биосферы, или *биологический мониторинг*.

Под **биологическим мониторингом** понимают систему наблюдений, оценки и прогноза любых изменений в биотических компонентах, вызванных факторами антропогенного происхождения (Федоров В.Д. и др., 1974; Израэль Ю.А., 1977) и проявляемых на организменном, популяционном или экосистемном уровнях. Это определение, по существу, отражает все задачи, стоящие перед биологическим мониторингом:

- наблюдение за живыми организмами и происходящими в окружающей природной среде биологическими процессами;
- количественная и качественная оценка состояния биоты;
- составление прогноза изменений состояния биологических систем под влиянием антропогенных воздействий.

Если иметь в виду общепризнанный в последнее время факт, что на земном шаре практически нет участков, не подвергающихся прямо или косвенно воздействию антропогенной деятельности, то становится очевидным, что биологический мониторинг должен охватывать наблюдением всю биоту нашей планеты.

По определению Н.Ф. Реймерса **мониторинг биологический** – слежение за биологическими объектами (наличием видов, их состоянием, появлением случайных интродуцентов и т.д.) и оценка качества окружающей среды с помощью биоиндикаторов (Реймерс Н.Ф., 1990).

В последнем определении мы сталкиваемся с *методом биоиндикации* как способом решения задач биологического мониторинга.

Биоиндикация – оценка состояния различных объектов окружающей среды по наличию тех или иных индикаторных организмов с учетом их морфо-функциональных характеристик. Можно также дать следующее определение: **биоиндикация** – это определение биологически значимых нагрузок на основе реакций на них живых организмов и их сообществ (Криволуцкий Д.А. и др., 1988).

Индикаторные организмы – биоиндикаторы (от греч. «bios» – жизнь и лат. «indicator» – указатель) – организмы или их сообщества, наличие и состояние которых служит показателем протекания в окружающей среде каких-либо процессов или присутствия определенных загрязняющих веществ.

Среди биоиндикаторов антропогенных воздействий выделяют:

- **чувствительные** – реагирующие значительными отклонениями жизненных проявлений от нормы (изменение анатомических и морфологических параметров, нарушение численности и качественного состава сообществ, изменение биомассы и т.п.);

- **аккумулятивные** – накапливающие антропогенные воздействия большей частью без быстрого проявления нарушений (аккумуляция токсических веществ, радионуклидов и т.п.).

Наличие чувствительных индикаторов дает возможность проводить *раннюю* индикацию, когда можно заблаговременно обнаружить антропогенно обусловленные нарушения в экосистеме и произвести направленное вмешательство по их устранению.

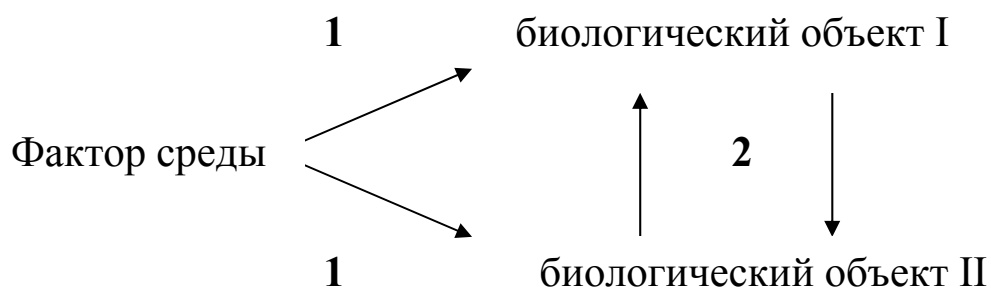
Основой задачей биоиндикации является разработка методов и критериев, которые могли бы адекватно отражать уровень антропогенных воздействий с учетом комплексного характера загрязнения и диагностировать ранние нарушения в наиболее чувствительных компонентах биотических сообществ.

1.2. Формы биоиндикации. Преимущества биоиндикаторов

Существуют различные формы биоиндикации:

- *неспецифическая* и *специфическая*. Если две одинаковые реакции вызываются различными антропогенными факторами, то говорят о *неспецифической биоиндикации*. Если те или иные изменения можно связать только с одним фактором, то речь идет о *специфической биоиндикации*;

- *прямая* и *косвенная* биоиндикация. Если антропогенный фактор действует непосредственно на биологический объект, то мы имеем дело с *прямой биоиндикацией* (1). Но нередко состояние биологического объекта изменяется под влиянием других непосредственно затронутых биологических объектов, то есть воздействие осуществляется опосредованно. Такая биоиндикация называется *косвенной* (2).



Биоиндикация, как и мониторинг, осуществляется на различных уровнях организации биосферы: макромолекула, клетка, орган, организм, популяция, биоценоз (Биоиндикация: теория..., 1994). С повышением уровня организации живых организмов усложняются их взаимосвязи с факторами среды. При этом биоиндикация на низших уровнях включается в биоиндикацию на высших. На низших уровнях организации живой материи преобладают прямые и чаще специфические формы биоиндикации, связанные с воздействием одного определенного фактора. На высших доминирует косвенная биоиндикация, связанная с целым комплексом факторов.

Выделяют два основных подхода в применении методов биоиндикации:

1) Пассивный мониторинг – у свободноживущих организмов исследуются видимые или незаметные повреждения или отклонения от нормы, являющиеся признаками антропогенного воздействия.

2) Активный мониторинг – оценка тех же воздействий на тест-организмах, находящихся в стандартизованных условиях.

Контроль экологического состояния окружающей среды с использованием биоиндикаторов обладает целым рядом преимуществ:

- в условиях хронических антропогенных нагрузок биоиндикаторы могут реагировать на относительно слабые нагрузки вследствие эффекта кумуляции дозы;

- биоиндикаторы суммируют воздействие всех без исключения биологически важных факторов антропогенного воздействия и отражают их влияние на состояние окружающей среды в целом, поскольку воздействие тех или иных веществ является толчком к разнообразным изменениям внутри экосистемы, компоненты которой тесно связаны между собой;

- указывают места скопления различных загрязняющих веществ и возможные пути их попадания в окружающую среду;

- позволяют контролировать состояние природной среды без применения дорогостоящих химических и физических методов; живые организмы постоянно присутствуют в окружающей среде и реагируют на кратковременные и залповые выбросы, которые может не зарегистрировать автоматизированная система контроля с периодическим отбором проб на анализы;

- позволяют судить о степени вредности тех или иных веществ для живой природы;

- помогают нормировать допустимую нагрузку на экосистемы.

1.3. Биоиндикация с использованием микробиологических показателей

Еще в 1906 г. известный советский микробиолог Василий Леонидович Омелянский (1867-1928) отметил две основные особенности микроорганизмов:

- высокую специфичность действия;
- исключительную чувствительность.

Под специфичностью он понимал избирательное сродство микроорганизмов, а под чувствительностью – способность обнаруживать незначительные количества различных веществ.

За последующий период наука и практика обогатились большим количеством данных, подтвердивших предвидение ученого. В настоящее время показано, что индикация загрязнения окружающей среды с использованием микробиологических показателей в большинстве случаев превосходит по чувствительности многие химические и физические методы. Микроорганизмы обладают чрезвычайно лабильной биохимической организацией клетки, выражающейся в перестройке ферментного аппарата и синтезе по мере необходимости новых ферментов. Благодаря этому бактерии быстро адаптируются к изменениям условий среды обитания и появлению новых экологических факторов как природного, так и антропогенного происхождения (Садчиков А. и др., 1990).

Микробиологическими индикаторами антропогенного влияния на различные природные экосистемы могут выступать:

- специфические физиологические группы микроорганизмов, которые встречаются лишь в присутствии определенных загрязняющих веществ и реагируют только на специфические химические соединения, например, углеводородокисляющие, ПАВ-деструктурирующие микроорганизмы и др.;
- родовой и видовой состав микробных ценозов природных сред и их структура;
- изменение общей численности бактерий, численности сапротрофов и олиготрофов;
- смена морфологических форм;
- интенсивность некоторых бактериальных процессов;

- изменение отдельных характеристик индикаторных микроорганизмов;

- группа санитарно-показательных микроорганизмов.

Такая биоиндикация является основой биомониторинга природной среды по микробиологическим показателям. Поскольку для микроорганизмов характерны прямые и специфические реакции, а также высокая чувствительность, то при их использовании возможна ранняя индикация, что очень важно для решения проблем охраны окружающей среды.

Вопросы и задания для контроля знаний

1. Дайте определение понятиям «мониторинг окружающей среды», «биологический мониторинг», «биоиндикация».

2. Соотнесите понятия «биологический мониторинг» и «биоиндикация»: какое место занимает биоиндикация в системе биологического мониторинга?

3. Какое из двух приведенных в тексте главы определений понятия «биоиндикация» является, на Ваш взгляд, наиболее полным с позиции решения задач, стоящих перед биологическим мониторингом?

4. В каких случаях возможна ранняя индикация антропогенных нарушений экосистем?

5. Что такое прямая и косвенная биоиндикация? Приведите примеры (воспользуйтесь материалом, изложенным в различных главах данного пособия).

6. Укажите, какие формы биоиндикации можно осуществлять на уровне микробных клеток и их сообществ?

7. Приведите примеры активного и пассивного мониторинга при использовании микробиологических показателей для оценки состояния окружающей среды (воспользуйтесь материалом, изложенным в различных главах данного пособия).

8. Какие из указанных преимуществ контроля экологического состояния окружающей среды с использованием биоиндикаторов можно непосредственно отнести к микроорганизмам? Ответ обоснуйте.

Глава 2

Микроорганизмы – индикаторы загрязнения водоемов

2.1. Краткая характеристика микроорганизмов водоемов. Участие в самоочищении вод

Вода является естественной средой обитания разнообразных микроорганизмов. В водоемах присутствуют представители почти всех систематических и физиологических групп бактерий, которые встречаются в почве, воздухе, на растениях и животных. Имеющиеся отличия в качественном и количественном составе микроорганизмов различных природных вод зависят от происхождения вод, характера их использования, а также от степени изученности.

По происхождению воды делят на:

- *поверхностные* (проточные – реки, ручьи, каналы; стоячие – озера, пруды, водохранилища, болота);
- *подземные* (почвенные, грунтовые, артезианские);
- *атмосферные* (дождь, снег);
- *морские*.

Поверхностные воды наиболее широко используются человеком, поэтому они являются наиболее загрязненными как по химическим, так и по микробиологическим показателям. Грунтовые воды залегают над первым водонепроницаемым пластом почв (глина, гранит, известняки), они ненадежно защищены от поверхностных загрязнений, поэтому в них также могут присутствовать различные химические и биологические (в частности, патогенные микроорганизмы) загрязнители. Над грунтовыми водами собирается верховодка – ближайшие к земной поверхности

безнапорные подземные воды, не имеющие сплошного распространения. Они периодически накапливаются и исчезают за счет испарения или перетекания в более глубокие горизонты. Верховодка залегает наиболее близко к поверхности земли, легко загрязняется отходами жизнедеятельности людей и выделениями животных, поэтому численность микроорганизмов в них, как правило, высока. Артезианские воды залегают ниже одного либо нескольких водоупорных слоев, находятся под давлением (напором), бедны микроорганизмами, что связано с малым количеством в них питательных веществ и фильтрующим эффектом почвы. Соленые водоемы отличает наличие галофильных и галотолерантных форм. Специфической группой являются термофильные микроорганизмы, рост и развитие которых происходит при повышенных температурах, и психрофильные микроорганизмы, способные расти при температуре 0°C и ниже.

Все водные микроорганизмы с точки зрения их происхождения в водоеме можно разделить на две группы:

аллохтонные – поступающие извне микроорганизмы (биологическое загрязнение, контаминация);

автохтонные – постоянно живущие в данном водоеме, т.е. собственно водные микроорганизмы, приспособленные к экологическим условиям данного водоема.

Аллохтонные микроорганизмы составляют лишь небольшую часть микробного населения водоемов. Эта группа может быть представлена сапротрофными, условно-патогенными и патогенными микроорганизмами. Основным источником аллохтонных микроорганизмов в открытых водоемах являются сточные воды различного происхождения (хозяйственно-бытовые, промышленные, сельскохозяйственные, поверхностно-ливневые, дренажные и др.). Кроме того, вода открытых водоемов может загрязняться в результате использования водоема в хозяйственно-бытовых, транспортных, рекреационных и других целях. Группа аллохтонных микроорганизмов является индикатором санитарного состояния водоемов и позволяет оценивать водные объекты с точки зрения их эпидемической (без)опасности.

Автохтонные микроорганизмы являются неотъемлемым компонентом водных экосистем и играют существенную роль в

их функционировании. Средой их обитания может быть водная толща (планктонные формы – *бактериопланктон*) и донные отложения (бентосные формы – *бактериобентос*). В результате жизнедеятельности автохтонных микроорганизмов завершаются многие биогеохимические циклы, они в значительной мере определяют способность экосистемы к самоочищению^{*}.

Самоочищение представляет собой сложный комплекс процессов, которые приводят загрязненную воду по содержанию органических веществ и наличию микроорганизмов к исходному состоянию. Выделяют три типа таких процессов:

- физические (растворение и разбавление, вынос на берег и в сопредельные водоемы, сорбция и осаждение, испарение);
- химические (процессы гидролиза, окисления, связывания с РОВ и др.);
- биологические (сорбция и накопление гидробионтами, биотрансформация, внеклеточная ферментация, фильтрация, сложные процессы взаимодействия автохтонных водных микро- и макроорганизмов с аллохтонными микроорганизмами и др.).

В биологических процессах самоочищения участвуют различные организмы планктона и бентоса, однако роль микроорганизмов в окислении, деструкции и минерализации загрязняющих веществ, а также в устранении биологических загрязнителей особенно велика (Остроумов С.А., Федоров В.Д., 1999).

2.2. Использование водных микроорганизмов в биоиндикаторных целях

Микроорганизмы являются наиболее чувствительным компонентом водоемов и потому очень удобны для определения геоостатичности водной экосистемы и изменения ее состояния в зависимости от степени и характера антропогенных нагрузок.

^{*} *Самоочищение* – процесс освобождения водоемов от различного рода загрязнений естественным путем.

Охарактеризовать качество воды можно с помощью следующих микробиологических показателей:

- качественный и количественный состав микроорганизмов, населяющих водоемы (видовое разнообразие, анализ морфологических форм, определение основных физиологических групп микроорганизмов (в зависимости от вида загрязнения), общая численность бактерий, количество сапротрофов и олиготрофов, присутствие санитарно-показательных микроорганизмов);

- интенсивность микробиальных процессов (бактериальная продукция и деструкция, гетеротрофная активность микроорганизмов и др.).

Анализ комплекса перечисленных показателей позволяет охарактеризовать процессы антропогенного евтрофирования* водоемов, а также оценить степень их загрязнения и способность к самоочищению.

Ценность данных, получаемых в результате микробиологического анализа воды, состоит еще и в том, что они позволяют осуществлять раннюю индикацию состояния водных экосистем. Начинающиеся изменения в видовом составе и численности микроорганизмов водного биоценоза служат сигналом надвигающегося неблагополучия в состоянии водоема еще до того, как концентрации отдельных химических соединений достигнут или превысят уровни ПДК, а общие показатели качества воды еще соответствуют требованиям «Правил охраны поверхностных вод». Таким образом, бактериологические методы дают возможность принять профилактические меры по охране водоемов (Синельников В.Е., 1980).

При индикации состояния водоемов в зависимости от целей исследования можно изучать как бактериопланктон, так и бактериобентос. Критерии бактериопланктона, благодаря его высокой чувствительности и лабильности, позволяют в большей степени давать оценку качества толщи воды и наличия «острых» ситуаций на момент исследований в той части водотока, которая находится выше пункта взятия пробы. Бактериобентос дает информацию о

* Под *евтрофированием* (эвтрофированием), в общем, понимают последствия увеличения содержания в водоемах азота, фосфора и других биогенных элементов, выражающиеся в повышении интенсивности продуцирования органического вещества.

хроническом влиянии на водоем бытового и технического загрязнения, так как именно в донных отложениях происходит концентрирование органических и неорганических загрязнителей, за счет чего в грунтах складывается особый ценоз микроорганизмов.

2.3. Изучение качественного состава бактериоценозов водоемов

2.3.1. Видовое и морфологическое разнообразие водных бактерий

Попытки использования микроорганизмов в качестве индикаторов чистоты водоема относятся к началу 20 века. Так, Кольквитц и Марссон в 1908 г. впервые предложили и осуществили биологический анализ пресных вод, позволяющий судить о химическом составе этих вод по населяющим их организмам. Они разделили водоемы и водотоки или их отдельные зоны в зависимости от степени загрязнения органическими веществами на полисапробные, α -мезосапробные, β -мезосапробные и олигосапробные. Каждому из этих основных типов вод соответствует определенный комплекс показательных организмов (Макрушин А.В., 1974).

Ниже приведем краткие характеристики вод, загрязненных (обогащенных) органическими веществами, с учетом развития представлений от Кольквитца и Марссона до настоящего времени, уделив основное внимание микробиологическим показателям.

1. Полисапробные воды. Содержат большое количество высокомолекулярных органических веществ, углекислоты, бедны кислородом. Для них типичны процессы разложения белков и других серосодержащих органических соединений, протекающие с образованием сероводорода и сульфида железа. Население таких вод бедно в видовом отношении, тогда как отдельные виды развиваются в громадном количестве. Число сапротрофных бактерий, растущих на МПА*, нередко превышает 10^6 кл/мл. Показательными микроорганизмами являются *Spirillum tenue*, *S.*

* МПА – мясо-пептонный агар.

volutans, бактериальные зооглеи *Zoogloea ramigera*, нитчатые серобактерии (*Beggiatoa*, *Thiothrix*) и некоторые другие.

2. α -мезосапробные (альфа-мезосапробные) воды. Близки к полисапробным, но в них уже наблюдаются окислительные процессы, так как содержание кислорода в этой зоне выше, чем в полисапробной. Число бактерий, растущих на МПА, исчисляется сотнями тысяч (10^5 кл/мл). Среди показательных микроорганизмов присутствуют *Sphaerotilus natans*, *Spirochaeta plicatilis*, также как в полисапробной зоне массово развиваются бактериальные зооглеи, нитчатые серобактерии.

3. β -мезосапробные (бета-мезосапробные) воды содержат много кислорода, нередко перенасыщены им. Преобладают продукты минерализации белка – нитраты, нитриты. Видовое разнообразие бета-мезосапробов выше, чем в предыдущей группе, но численность и биомасса ниже. Число бактерий на МПА исчисляется десятками тысяч (10^4 кл/мл). В качестве показательных видов рассматриваются *Lampropedia hyaline*, *Cladothrix dichotomata* (Рубенчик Л.И., 1972).

4. Олигосапробные воды – практически чистые воды, содержание органических веществ не более 1 мг/л, кислорода избыток. Если такие воды произошли путем минерализации из загрязненных вод, то для них характерна почти полная минерализация органических соединений до неорганических компонентов. Для олигосапробных вод характерно большое видовое разнообразие. Число сапротрофных бактерий, вырастающих на МПА, не более 10^3 кл/мл. Среди показательных микроорганизмов для таких вод можно назвать *Gallionella ferruginea*, *Leptothrix ochraceae*, развивающихся в больших количествах в родниках с железосодержащими водами.

Совершенствуясь в течение многих лет со времени создания, система Кольквитца-Марссона стала наиболее детально разработанной среди систем биологического анализа. Тем не менее, система несвободна от ряда присущих ей недостатков. Поскольку многие индикаторы сапробности приводятся для Средней Европы, даже в европейской части нашей страны система должна применяться с поправками, для конкретного водного объекта должны составляться свои региональные списки видов-

индикаторов. Система может давать разные результаты на быстро текущих реках и стоячих водоемах.

В ходе проведения микробиологических исследований могут, кроме того, возникать дополнительные трудности, связанные с определением таксономической принадлежности бактерий. Микробиологи по морфологии обнаруженных при микроскопировании проб воды или донных отложений микробиальных клеток в подавляющем большинстве случаев не могут отнести их не только к определенному виду, но и роду. Для этого необходимо выделить микроорганизмы в чистую культуру, проделать несколько десятков биохимических определений, провести генетические исследования и т.д. Выделение чистых культур также сопряжено с немалыми трудностями, поскольку большинство обнаруженных прямым микроскопированием форм микроорганизмов не культивируется на питательных средах из-за тесных трофических взаимоотношений между видами в природном сообществе или из-за не разработанности соответствующих питательных сред.

Решению этой проблемы в определенной степени способствует появление в последнее время в микробиологии подходов, основанных на анализе первичной структуры нуклеиновых кислот, содержащихся в природных водах, и биомаркерном анализе значимых липидов. Использование новых современных методов помогает составить более адекватное представление о видовом разнообразии присутствующих в водоемах микроорганизмов. Подобные работы проводятся как за рубежом, так и у нас в стране (Белькова Н.Л. и др., 1996; Денисова Л.Я. и др., 1999; Кондакова Г.В. и др., 2002; Осипов Г.А. и др., 1994; Hiorns W.D. et al., 1997; Kane M. et al., 1997; Kondakova G.V. et al., 2002; Stead D.E. et al., 1992; Trusova M.Yu., Gladyshev M.T., 2002). Благодаря этим методам установлено, что подавляющее большинство бактерий, выявляемых по последовательности гена 16S рРНК или по профилю специфических жирных кислот определенных групп микроорганизмов (микробным маркерам), не обнаруживаются путем культивирования на питательных средах, а культивируемые бактерии составляют лишь незначительную долю бактериального населения поверхностных водоемов и подземных вод. Использование указанных новых подходов дает возможность более полного описа-

ния бактериального звена водных экосистем, что в свою очередь позволяет более успешно решать задачи оценки экологического состояния водоемов и индикации качества природных вод. Однако молекулярные методы также не лишены недостатков, поскольку требуют специальной аппаратуры и подготовки исследователей, не дают количественной оценки, и, кроме того, весьма дороги.

Другой подход к решению данной проблемы – анализ морфологических форм бактерий путем микроскопирования препаратов, приготовленных непосредственно из проб природных вод или из колоний, которые вырастают на питательных средах, без обязательного установления их видовой принадлежности.

Применение электронной микроскопии для анализа препаратов, приготовленных непосредственно из проб природных вод, позволило выявить многие неизвестные ранее формы микроорганизмов водных экосистем и установить экологию некоторых из них. Это относится к редким, морфологически своеобразным видам бактерий, имеющим различного рода выросты, почкующимся и стебельковым формам. Указанный метод при исследовании озер впервые применили Д.И. Никитин и С.И. Кузнецов (1967), а затем и многие другие ученые. Н.А. Лаптева (1976) установила связь присутствия тех или иных бактериальных форм с сезонными изменениями в водоеме и с составом органического вещества. Было показано, что основная масса бактерий в воде представлена в течение всего года палочковидными, кокковидными, стебельковыми формами, мелкими вибрионами и спиралями. Морфологически своеобразные формы бактерий (почкующиеся и имеющие различного рода выросты) приурочены к определенным участкам водоемов. Так, бактерии с многочисленными фимбриями и отростками, почкующиеся бактерии рода *Hyrphomicrobium* преобладают в районах с высокоцветными болотными водами. В дальнейшем Н.А. Лаптева (1976, 1983) выявила связь морфологии бактериальных клеток с трофическим типом* озер. Было установ-

* Классификация озер по степени их трофии была предложена Тинеманном (Thienemann, 1925) и Науманном (Naumann, 1921) и основывалась главным образом на наблюдениях динамики кислорода в толще воды. Они выделили три типа озер: *олиготрофные*, *евтрофные* и *дистрофные*. В первом типе озер кислород присутствует и мало изменяется в толще воды в течение года, воды бедны био-

лено, что в евтрофных озерах бактериальные формы в основном представлены крупными палочковидными клетками, чаще всего в виде крупных скоплений или цепочек. В олиготрофных и близких к мезотрофным озерах распространены бактерии в форме палочек небольшого размера и коккобацилл, в олиготрофных озерах широко представлены микоплазмоподобные формы. Стебельковые формы обнаружены в озерах различных типов, но в более значительных количествах они присутствуют в воде мезотрофных и дистрофных озер. В дистрофных озерах постоянно присутствуют микроорганизмы с многочисленными фимбриями.

О.М. Кожова и Н.В. Дутова (1989) при исследовании бактериопланктона реки Ангара установили принадлежность определенных морфологических форм бактерий к водам с различным содержанием органического вещества. Ими, как и в работах Н.А. Лаптевой, было показано, что банальные формы – кокковидные, палочковидные и вибрионы – распространены повсеместно, однако в фоновых районах доминируют кокковидные клетки, а в загрязненных – палочковидные, особенно с лентовидными выростами (рис. 1, 2).

В районе сброса промышленных сточных вод (с температурой до 32⁰ С) отмечено преобладание морфологически своеобразных форм: различных стебельковых бактерий, клеток, имеющих разнообразные выросты, в том числе плоские лентовидные, нитевидных несегментированных форм и спирилл. Такие специфические формы составляли существенную долю бактериопланктона сточных вод, поэтому их соотношение с обычными формами авторы предложили использовать для оценки распространения зоны загрязнения промышленными стоками.

генными элементами; во втором типе наблюдаются резкие изменения содержания кислорода по сезонам и по глубине от полного дефицита в гипolimнионе до пресыщения в эпилимнионе, воды богаты биогенными элементами; третий тип представляет собой особый вид олиготрофии, кислород присутствует по всей толще, а вода окрашена гуминовыми соединениями. В дальнейшем были выделены озера с промежуточными показателями между первыми двумя типами – **мезотрофные**. В настоящее время используется и множество других критериев, определяющих тип озер и водохранилищ, в том числе количество организмов и интенсивность биологических процессов (Горленко В.М. и др., 1977; Романенко В.И., 1985).

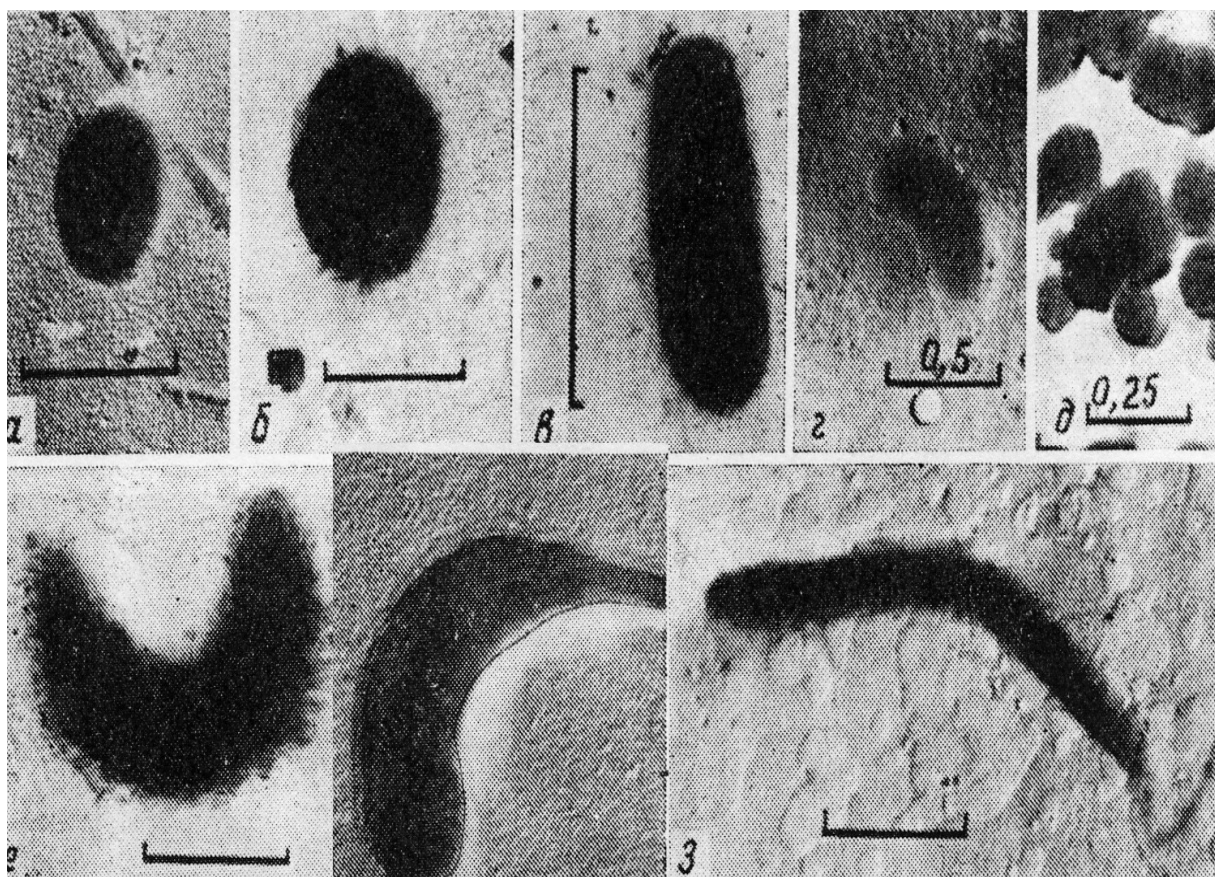


Рис. 1. Состав форм фонового участка реки (по О.М. Кожовой и Н.В. Дутовой, 1989): а – кокковидные, $d=0,5$ мкм; б – кокковидные, $d=1$ мкм; в – палочковидные прямые средние ($1,3-1,8 \times 0,4-0,6$ мкм); г – вибрионы мелкие; д – кокковидные мельчайшие ($0,07-0,15$ мкм); е – *Microcyclopus*; ж – *Caulobacter* с коротким стебельком; з – палочковидные изогнутые с «хвостом» на конце

В целом, на основании многочисленных электронно-микроскопических исследований бактериальных форм природных вод, можно утверждать, что в чистых участках водоемов бактериопланктон морфологически менее разнообразен и представлен банальными формами (кокки, палочки, вибрионы). По мере отклонения от фонового состояния возрастает роль морфологически своеобразных форм микроорганизмов (стебельковые, клетки с разнообразными выростами, нитевидные, спирали), обитающих лишь в определенных специфических условиях, где роль банальных форм меньше. Это может быть использовано при классификации качества вод и выделении разных зон сапробности.

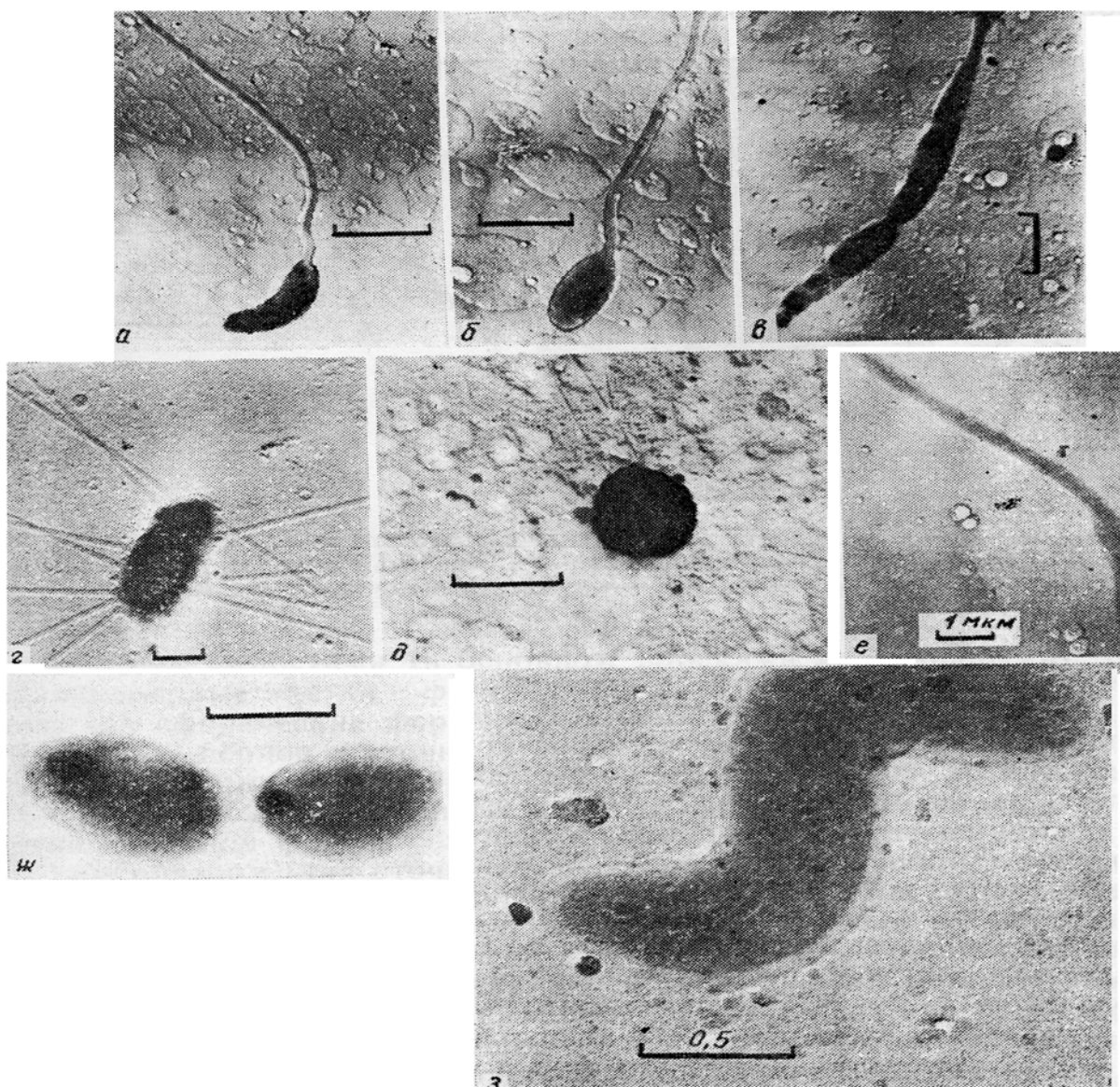


Рис. 2. Состав форм в промышленных сточных водах (по О.М. Кожовой и Н.В. Дутовой, 1989): а – *Caulobacter* с длинным стебельком виброидного типа; б – *Caulobacter* с длинным стебельком бактероидного типа; в – *Caulobacter* с зернистой структурой и многочисленными фимбриями; г – палочковидные с плоскими лентовидными выростами; д – сферические формы с тонкими нитями; е – нитевидные червеобразные; ж – овальной формы; з – спирали

В практической работе для индикации степени загрязнения вод часто используют более доступный метод – анализ морфологических форм гетеротрофных бактерий, вырастающих на лабораторных питательных средах. При этом сначала на основании внешних различий выделяют основные морфологические типы колоний, а затем проводят их микроскопирование. По результа-

там микроскопического исследования выделяют основные морфологические типы гетеротрофных бактерий и определяют их долю (процент): 1) кокки; 2) грамотрицательные неспорообразующие палочки; 3) грамположительные спорообразующие палочки; 4) грамположительные палочки, не образующие спор. При интерпретации результатов можно пользоваться следующими цифрами: в относительно чистых водах преобладают кокки (до 80% от общего количества гетеротрофных бактерий); при загрязнении возрастает доля спорообразующих и других палочковидных форм (до 80%), появляются в значительном количестве вибрионы (10% и более), удельный вес кокков резко падает (10% и менее) (Шеховцова Н.В., Верховцева Н.В., 1999).

2.3.2. Анализ специфических физиологических групп бактерий

Водные микробиоценозы содержат большое количество микроорганизмов, осуществляющих различные специфические биогеохимические процессы. Это так называемые функциональные (физиологические)* группы, участвующие в превращениях соединений азота (аммонификаторы, нитрификаторы, денитрификаторы, азотфиксаторы); принимающие участие в циклах серы (сульфатредукторы, бактерии, окисляющие восстановленные соединения серы), фосфора, железа и др. Многие микроорганизмы могут выполнять различные физиологические функции в зависимости от условий. Например, значительное количество представителей рода *Bacillus* способны как фиксировать азот, так и осуществлять процесс аммонификации. Однако есть и облигатные микроорганизмы, которые выполняют лишь одну функцию, например, представители рода *Azotobacter* осуществляют только азотфиксацию.

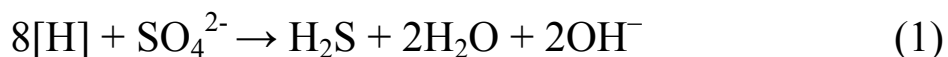
По интенсивности развития той или иной группы бактерий можно судить в целом о процессах, происходящих в водоеме, а также выделить доминирующий процесс, определяющий состоя-

* Под **функциональными группами** понимают группы микроорганизмов, выполняющих при определенных условиях одну и ту же физиологическую функцию в цепи превращения веществ (физиологическая группа).

ние исследуемого водного объекта. Такими индикаторными группами могут быть, например, сульфатвосстанавливающие бактерии, микроорганизмы цикла азота, углеводородокисляющие, фенолдеструктурирующие бактерии и другие. Ниже приведена краткая характеристика некоторые из них, а также показана возможность использования их в целях биоиндикации.

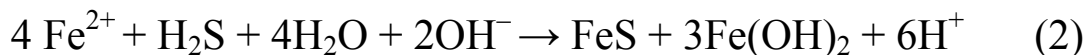
Сульфатвосстанавливающие бактерии

К сульфатвосстанавливающим бактериям (СВБ) или сульфатредукторам относят микроорганизмы, которые окисляют органические соединения в облигатно анаэробных условиях, используя сульфаты в качестве конечного акцептора в цепи переноса электронов (представители родов *Desulfovibrio*, *Desulfomonas*, *Desulfotomaculum* и др.). Главным продуктом такого процесса является сероводород (1).



Большая часть сероводорода, образующегося в природе, возникает благодаря этой реакции.

Сульфатредукция в определенных условиях может играть основную роль в общем окислении органического вещества в донных отложениях. При этом признаками деятельности сульфатвосстанавливающих бактерий является образование сероводорода H_2S и черный ил, цвет которого обусловлен присутствием в нем больших количеств сульфида железа (II) – FeS , образующегося в реакции (2).



Интенсивное восстановление сульфата в местах накопления органического вещества может приводить к образованию безжизненных областей из-за токсического действия сероводорода.

Высокая численность СВБ является показателем того, что водоем в аэробной зоне не справляется с органическим загрязнением, и процесс деструкции переходит в анаэробную зону. Кроме того, значительное количество бактерий данной группы может указывать на загрязнение водоема сульфатами.

В качестве примера рассмотрим результаты микробиологических исследований, проведенных в районе сброса сточных вод

Байкальского ЦБК (Намсараев Б.Б. и др., 1995), которые позволили не только выявить доминирующие процессы, определяющие состояние исследуемого района, но и оценить их значимость для экосистемы в ближайшем и отдаленном будущем.

Изучались микробиологические показатели на двух станциях: ст. 2 расположена в непосредственной близости от места сброса сточных вод; ст. 3 – контрольная, расположена в стороне от зоны водосброса на расстоянии 3-4 км. В районе сброса сточных вод была зафиксирована максимальная численность сульфатредуцирующих бактерий и низкая – аэробных сапротрофов, тогда как на контрольной станции, наоборот, количество сапротрофов было высоким, а сульфатредукторов – низким (табл. 1).

Таблица 1

***Физико-химическая и микробиологическая характеристика
донных отложений оз. Байкал
(по Б.Б. Намсараеву с соавт., 1995)***

Станция	ОВП, мВ	Содержание		Численность, тыс. кл/мл		Скорость бактериальных процессов (кг•сут)		Продукция H ₂ S, мг/м ² сут.
		целлюлозы, мг/кг	S/SO ₄ ²⁻ мг/л	аэробные сапротрофы	сульфатредукторы	общая деградация целлюлозы мг	сульфат-редукция, мкг S	
2	-75	1960	3,28	40,5	210,0	41,13	38,5	1,844
3	465	870	5,72	342,0	92,3*	8,55	0,007	0,001

* – среднее значение

На станции 2 было самое высокое содержание целлюлозы в осадках и самые высокие скорости бактериальных процессов деградации целлюлозы и сульфатредукции. Скорость разложения целлюлозы здесь в 3 раза превышала таковую в контрольной станции. Образование в связи с этим и поступление в осадки дан-

ной станции низкомолекулярных органических соединений активизируют вторичных анаэробов – сульфатредукторов. Активная деятельность анаэробов вызывает изменения физико-химических параметров осадков, окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) снижается до -75 мВ, что значительно ниже, чем на контрольной станции. Уменьшается количество сульфатов, наблюдается интенсивная продукция сероводорода, которая превышает величину в контрольной зоне в 100 раз.

Полученные результаты показали, что в зоне сброса сточных вод ЦБК образуются локальные зоны активной деятельности микроорганизмов, спровоцированные техногенным загрязнением. Авторы прогнозируют, что при продолжении сброса сточных вод будет увеличиваться бактериальная продукция сероводорода, при этом возможно образование локальных анаэробных зон в водной толще, что существенно ухудшит экологическую обстановку этого района.

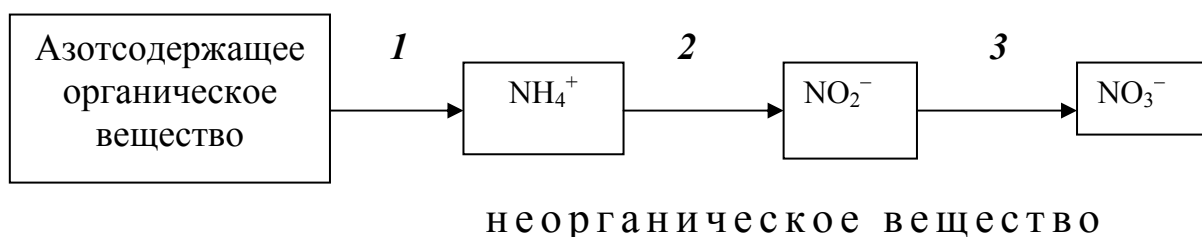
Микроорганизмы цикла азота

По количественному распределению отдельных групп бактерий азотного цикла и по интенсивности осуществляемых ими процессов можно судить о скорости распада азотсодержащих органических соединений, поступающих в водоем, например, со сточными водами различного происхождения. Общая схема минерализации органического азота представлена на рис. 3.

При минерализации азот, входящий в состав белков, нуклеиновых кислот, мочевины и других азотсодержащих органических соединений, переходит сначала в форму аммиака NH_3 (восстановленная форма азота). Этот процесс осуществляет группа микроорганизмов, называемых *аммонификаторами* (рис. 3, 1). Среди них наиболее распространены грамположительные спорообразующие представители рода *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. cereus* и др.), а также грамотрицательные неспорообразующие представители родов *Pseudomonas*, *Proteus* и др.

Окисление восстановленных соединений азота осуществляет группа нитрифицирующих бактерий. Первую фазу – окисление аммония до солей азотистой кислоты (нитритов) проводят представители родов *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus*, *Nitro-*

sospira, *Nitrisovibrio* (рис. 3, 2). Вторую фазу – окисление нитритов в нитраты – осуществляют бактерии родов *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospina*, *Nitrospira* (рис. 3, 3).



- 1- аммонификация;
- 2- нитрификация 1-ой фазы (окисление аммония);
- 3- нитрификация 2-ой фазы (окисление нитритов).

Рис. 3. Схема минерализации азотсодержащих органических соединений под действием микроорганизмов

Рассмотрим распределение численности микроорганизмов цикла азота и изменение их активности на примере модельного эксперимента по изучению влияния стоков Байкальского ЦБК на микробиальные процессы (Илялетдинов А.Н., Верховзина В.А., 1982).

Аммонифицирующие бактерии в чистой воде встречаются в минимальных количествах (менее $2,5 \cdot 10^2$ кл/мл), при внесении же промышленных стоков их число быстро возрастает, достигая максимума примерно на 8 день (рис. 4).

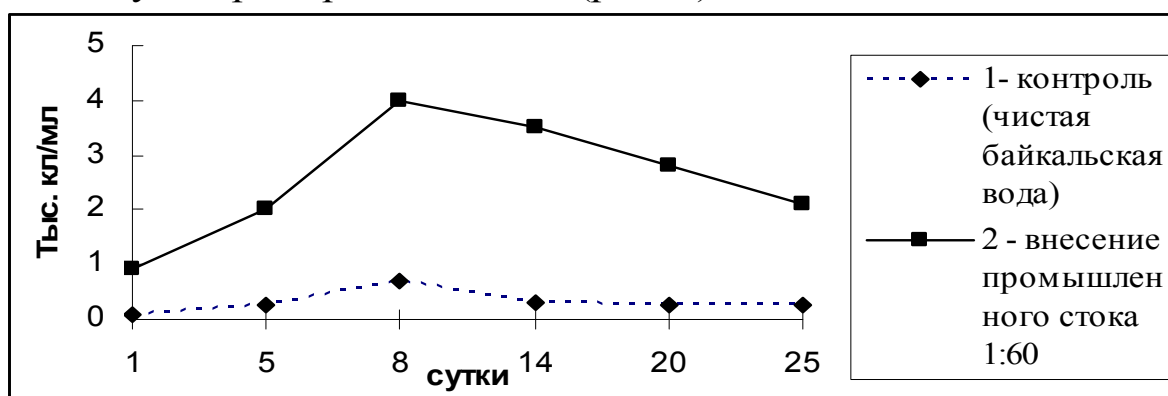
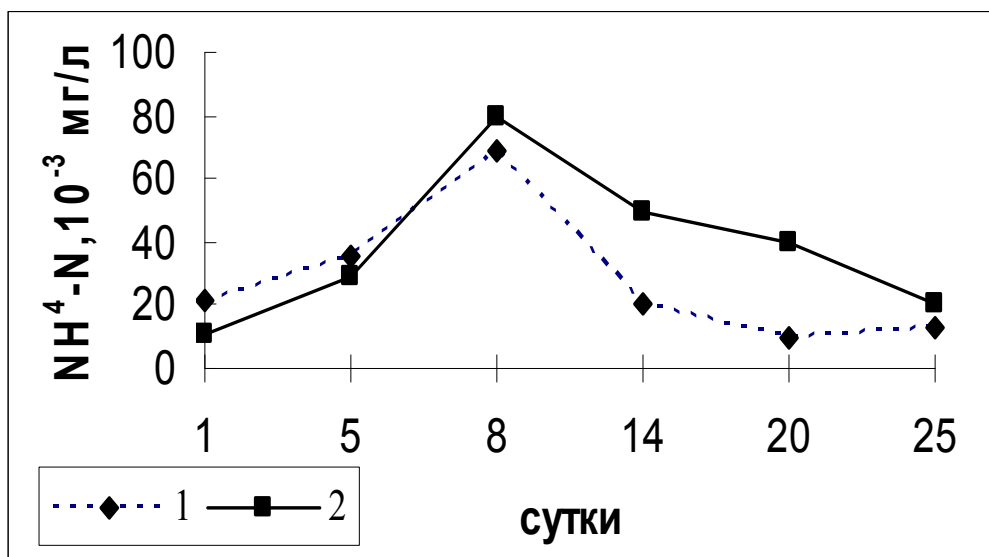
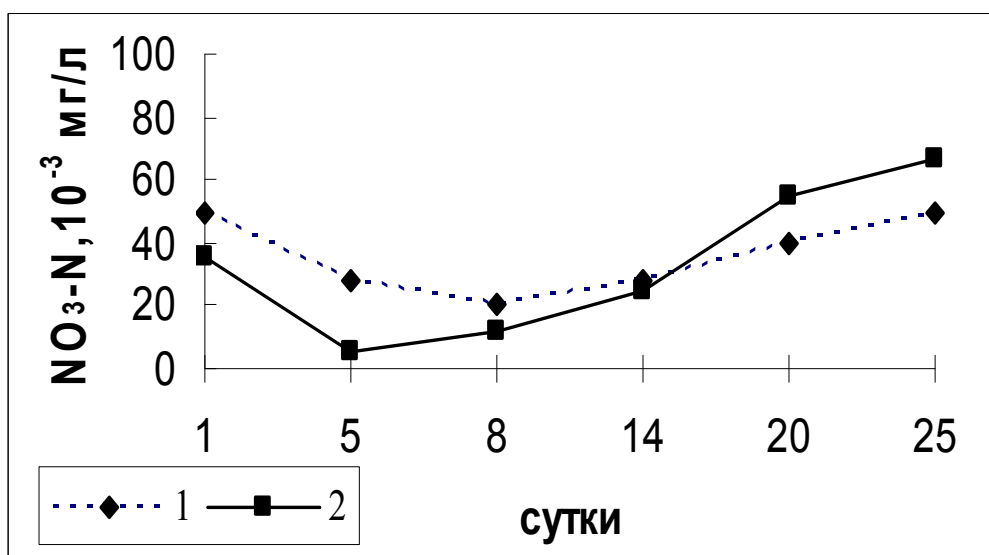


Рис. 4. Изменение численности аммонифицирующих бактерий под влиянием стока Байкальского ЦБК (по Илялетдинову А.Н., Верховзиной В.А., 1982)

С увеличением численности аммонификаторов совпадает пик увеличения аммонийного азота, что обусловлено деятельностью данной группы бактерий (рис. 5, А). Деятельность нитрификаторов была прослежена по изменению конечного продукта их жизнедеятельности – нитрата. При добавлении стока активность нитрификаторов несколько снижается: в первые дни опыта при добавлении промышленного стока наблюдается резкое уменьшение количества нитратного азота (рис. 5, Б).



А



Б

Рис. 5. Изменение содержания аммонийного (А) и нитратного (Б) азота (условные обозначения те же, что и на рис. 4)

Известно, что органические вещества тормозят развитие клеток нитрификаторов, кроме того, аммонификаторы, усиленно

развиваясь, поглощают кислород, и нитрификаторы временно оказываются в неблагоприятных для жизнедеятельности условиях. После того, как органические вещества использованы и деятельность аммонификаторов стабилизировалась, начинают свою работу нитрификаторы – сначала аммонийоокисляющие, затем нитритоокисляющие. На 25-е сутки содержание нитратов в воде с добавлением промышленных стоков было выше, чем в контроле (0,064 и 0,055 мг/л соответственно). Таким образом, минерализация органического вещества достигает своего конечного этапа.

2.4. Количественные показатели водного бактериоценоза

Чаще всего в экологических исследованиях водных и почвенных микробоценозов широко применяется концепция первичной классификации компонентов микробного сообщества, которая основывается на функциональных и трофических связях (Звягинцев Д.Г. и др., 1984; Никитин Д.И., Никитина Э.С., 1978). При этом проводят количественный учет микроорганизмов методами прямого микроскопирования и посевов на различные питательные среды, затем путем сопоставления данных находят доминантную эколого-трофическую или функциональную группу бактерий, по интенсивности развития которой можно судить в целом о процессах, происходящих в водоеме, а также выделить доминирующий процесс, определяющий состояние исследуемого водного объекта.

2.4.1. Общее количество бактерий

Общее количество бактерий, учитываемое методом прямого счета под микроскопом, составляет ту основную массу микроорганизмов, которая определяет процессы деструкции органического вещества в водоемах.

Общая численность бактериопланктона хорошо коррелирует со степенью трофности водоёма, причём зависит не от общего количества растворенного органического вещества (РОВ), а от его усвояемой биотой части. С.И. Кузнецов (1970) приводит сле-

дующую классификацию водоемов по степени трофности в зависимости от общей численности бактерий (табл. 2).

Таблица 2

Общая численность бактерий в различных природных озёрах и водохранилищах (по С.И. Кузнецову, 1970)

Трофность водоёма	Общее число бактерий ($\times 10^3$ кл/мл)
Олиготрофные озёра	50-340
Мезотрофные озёра	450-1400
Эвтрофные озёра	2200-12300
Эвтрофные водохранилища	1000-57900
Дистрофные озёра	430-2300

Величина общей численности микроорганизмов используется также при классификации качества воды в зависимости от степени ее загрязнения. Классы качества воды по гидробиологическим и микробиологическим показателям в нашей стране определяются «Правилами контроля качества воды водосливов и водотоков» (ГОСТ 17.1.3.07–82). В табл. 3 приведены микробиологические показатели, которые учитываются при определении уровня загрязнения и класса качества вод.

Таблица 3

Классы качества воды по микробиологическим показателям (по ГОСТ 17.1.3.07–82)

Класс качества вод	Степень загрязненности	Микробиологические показатели		
		Общее число бактерий, $\times 10^6$ клеток/мл	Число сапрофитных бактерий, $\times 10^3$ клеток/мл	Отношение общего числа бактерий к числу сапрофитных бактерий
I	Очень чистые	$<0,5$	$<0,5$	>1000
II	Чистые	0,5-1,0	0,5-5,0	>1000
III	Умеренно загрязненные	1,1-1,3	5,1-10,0	1000-100
IV	Загрязненные	3,1-5,0	10,1-50,0	<100
V	Грязные	5,1-10,0	50,1-100,0	<100
VI	Очень грязные	$>10,0$	>1000	<100

В работе "Комплексная экологическая классификация качества поверхностных вод суши" О.П. Оксенок с соавторами (1993) предложили еще более детальную экологическую классификацию качества поверхностных вод суши, в которой общее количество микроорганизмов бактериопланктона также используется как один из показателей, характеризующих качество воды. В своих классификационных таблицах они соотнесли две шкалы: сапробности и трофности. Если под сапробностью понимается интенсивность органического *распада*, то трофность означает интенсивность органического *синтеза*. В природе оба процесса – органический синтез и распад – существуют параллельно и состоят друг с другом во взаимодействии, что позволяет говорить об аналогии ступеней сапробности и трофности:

- «олигосапробность – олиготрофия»;
- «β -мезосапробность – мезотрофия»;
- «α -мезосапробность – евтрофия»;
- «полисапробность – политрофия (гипертрофия)».

В табл. 4 приведен фрагмент разработанной указанными авторами классификации, касающийся микробиологических показателей.

В донных отложениях органическое вещество, осевшее из водной толщи, также в основном разрушается микроорганизмами. Главная функция бентосных микроорганизмов заключается в минерализации органических и одновременном восстановлении минеральных соединений. Значительная доля органического вещества, образовавшегося в водоеме, и основная часть привнесенного с водосборной площади или поступившая со стоками не успевает разложиться в водной толще и осаждается на поверхности грунтов. Здесь в результате деятельности сообщества бентосных организмов происходит его деструкция. Ведущая роль в этом процессе принадлежит сложным бактериальным комплексам, состав которых зависит от типа водоема и ряда экологических условий (Горленко В.М. и др., 1977). При наличии кислорода в грунтах преобладает аэробная минерализация органического вещества с образованием нейтральных биогенных веществ и поглощением свободного O_2 . В бескислородных условиях происходит анаэробный распад с выделением восстановленных соединений, среди ко-

торых немало токсичных для гидробионтов: метан, сероводород, аммиак, меркаптан и др. Накопление подобных продуктов микробиальной деятельности может привести к обширным заморам и даже образованию локальных токсичных зон. Изучение структуры и функционирования бактериобентоса и изменений, происходящих в нем под влиянием различного рода загрязнения, позволяет не только охарактеризовать процессы, происходящие в водоемах, но и оценить экологическое состояние водоема в целом.

Таблица 4

***Классы качества воды по микробиологическим показателям
(по О.П. Оксуюк с соавт., 1993)***

Классы ка- чества воды	Разряды качества вод	Численность бактерио- планктона, х10 ⁶ кл/мл	Численность сапрофитных бактерий, х10 ³ кл/мл	Зона сапроб- ности	Категория трофности
1-предельно чистая	1 – пре- дельно чистая	менее 0.3	<0,1	ксено- сапроб- ная	олиготроф- ная
2-чистая	2 а – очень чистая	0.3-0.5	0,1-0,5	олиго- сапроб- ная	
	2 б – впло- не чистая	0.6-1.5	0,6-1,0		
3-удовлет- ворительной чистоты	3 а – дос- таточно чистая	1.6-2.5	1,1-3,0	β-мезо- сапроб- ная	мезотрофная
	3 б – слабо загрязнен- ная	2.6-5.0	3,1-5,0		
4 - загряз- ненная	4 а – уме- ренно за- грязненная	5,1.7.0	5,1-7,0	α-мезо- сапроб- ная	евтрофная
	4 б – силь- но загряз- ненная	7.1-10.0	7,1-10,0		политрофная
5- грязная	5 а – весь- ма грязная	10.1-20.0	10,1-100,0	поли- сапроб- ная	гипертроф- ная
	5 б – пре- дельно грязная	более 20.0	>100,0		

Обычно общее количество бактерий в грунтах на три порядка выше, чем в водной толще, и положительно коррелирует со степенью заиленности грунта. В работе "Оценка экологического состояния водохранилищ Верхней Волги по критериям бактериобентоса" А.Н. Дзюбан с соавторами (1998) на основании большого фактического материала по изучению бактериобентоса водоемов бассейна Верхней Волги предложили сгруппировать ряд наиболее используемых показателей, в том числе и общую численность бактериобентоса, для количественной оценки экологического состояния водоемов с разным уровнем загрязнения. Предложенное ранжирование от «нормы» к «кризисному состоянию» отражает глубокие изменения в бактериоценозах грунтов, находящихся в зонах повышенного антропогенного давления (табл. 5).

Таким образом, изменения, происходящие в структуре и функционировании бактериобентоса, служат индикатором возрастающего антропогенного давления на водоемы.

Таблица 5

Бактериобентос как показатель экологического состояния водоемов (по А.Н. Дзюбан с соавт., 1998)

Параметры (бактерии, кл/см ³ ; процессы, м ² /сут)	Норма	Состояние риска	Предкризисное состояние	Кризисное
Общее количество (ОКБ)	$<10^6$	10^5-10^6	10^6-10^7	10^5-10^6
Аэробные сапрофиты	$<10^4$	10^4-10^5	10^5-10^6	$<10^4$
Сапрофиты, % от ОКБ	$<10^{-2}$	$10^{-2}-10^{-1}$	$10^{-1}-1$	>1
Анаэробные бродильщики	$<10^3$	10^3-10^5	10^5-10^6	10^6-10^7
Сульфатредукторы	$<10^2$	10^2-10^3	10^3-10^5	10^5-10^6
Активнодышащие, % от ОКБ	>50	30-50	1-10	<1
Аэробы / анаэробы	>10	1-10	$\cong 1$	<1
Потребление O ₂ , мг	$<10^2$	10^2-10^3	$10-10^2$	0-10
Метаногенез, мл CH ₄	<2	2-10	$10-10^3$	10^2-10^4
Сульфатредукция, мг S	$<10^{-3}$	$10^{-3}-1$	1-10	$10-10^3$
Соотношение потоков распада органического вещества (аэробная деструкция / анаэробная деструкция)	>10	1-10	<1	$<0,1$

2.4.2. Учет различных групп гетеротрофных бактерий

Гетеротрофные микроорганизмы являются основными деструкторами органического вещества в экосистемах. Среди гетеротрофов выделяют две эколого-трофические группы: *копиотрофы* (*евтрофы*), нуждающиеся в относительно высоких концентрациях органического вещества, и *олиготрофы*, выигрывающие конкуренцию при низком его содержании. Для группы копиотрофов также широко используется термин *сапротрофы* (сапрофиты). При индикации состояния вод проводят учет обеих названных групп, для чего используют питательные среды с различным содержанием органического вещества:

- обогащенная органическими соединениями среда МПА (или РПА*);

- среда Горбенко МПА:10 (РПА:10), в которой концентрация углерода в 10 раз меньше, чем в стандартной среде МПА.

Посев на обогащенные среды традиционно входит в общепринятые методы анализа. На этих средах вырастают копиотрофы, численность которых служит надежным и высокочувствительным индикатором загрязнения водоемов легкоразлагаемыми органическими веществами (табл. 3, 4).

Однако содержание органического вещества в природных водах намного ниже, чем в питательных средах, обычно применяемых для учета копиотрофов (табл. 6)

Это не благоприятствует росту на таких питательных средах большинства водных микроорганизмов, которые являются олиготрофами. Поэтому для приближения получаемых данных к реально существующим в поверхностных водах концентрациям бактерий предложено использование обедненных органических сред (Романенко В.И., 1985). Количество олиготрофных бактерий, вырастающих на среде Горбенко, не связано прямой зависимостью с числом копиотрофов, вырастающих на МПА. Числен-

* РПА – рыбопептонный агар

ность олиготрофов зависит от концентрации и характера присутствующего в анализируемой воде органического вещества и может служить показателем качества и трофии вод (Марголина Г.Л., 1989).

Таблица 6

Содержание органического вещества в природных водах и лабораторных питательных средах (по В.И. Романенко, 1985)

Объект	Содержание органического вещества, мг С/л
Водоемы	
Байкал	1-2
Рыбинское водохранилище	7-15
Каспийское море	3-5
Тихий океан	1,5-2
Питательная среда	
Мясо-пептонный агар (МПА)	4000
Мясо-пептонный желатин (МПЖ)	54000

В качестве примера можно рассмотреть данные, приводимые Г.Л. Марголиной (1989) по изучению бактериопланктона оз. Валдайского и его притоков (табл. 7).

Таблица 7

Количество бактерий в поверхностном горизонте оз. Валдайского в июле-августе 1979 г. (по Г.Л. Марголиной, 1989)

№ станции отбора проб	Общее количество бактерий (ОКБ), млн. кл/мл	Количество гетеротрофных бактерий, кл/мл		N _{общ} / N _{МПА}	N _{МПА:10} /N _{МПА} (И _Т)
		МПА	МПА:10		
4	1,32	240	2100	5500	9
9	0,61	390	4500	1600	11
11	1,47	300	3600	4900	12
18	3,92	35000	73000	112	2

Ст. 4, 9, 11 – открытые части озера; ст.18 – приток (городской ручей).

По микробиологическим данным, полученным в период исследования, открытые части озера характеризуются как мезотрофные. Прибрежная часть озера значительно изменяется под воздействием расположенного на его берегах г. Валдая, являющегося источником евтрофирующих веществ. Наиболее характерны в этом отношении протекающие в пределах города ручьи.

2.4.3. Количественное соотношение микроорганизмов, учтенных различными методами

1. $N_{\text{общ}} / N_{\text{МПА}}$

Хорошим показателем качества вод служит соотношение общего количества бактерий ($N_{\text{общ}}$) и количества бактерий, вырастающих на МПА ($N_{\text{МПА}}$).

Подобное соотношение впервые было введено А.С. Разумовым (1932) и затем использовано С.И. Кузнецовым (1970). Это соотношение используется и в настоящее время при определении уровня загрязненности и класса качества воды в соответствии с ГОСТ 17.1.3.07–82. В водоемах с водой высокого качества общее количество бактерий в 1000 и более раз превышает число сапротрофных бактерий, при загрязнении вод данное соотношение уменьшается и в районах хозяйственной деятельности человека может быть значительно менее 100 (табл. 3).

2. $N_{\text{МПА}} / N_{\text{общ}}, \%$

Поскольку при подсчете коэффициента K_1 получаются довольно большие числа, В.И. Романенко (1971) для большего удобства предложил использовать обратное соотношение ($N_{\text{МПА}} / N_{\text{общ}}$), выразив его в процентах. Чем чище вода, тем больше разница в учёте этими методами. В практически чистых водах сапротрофы могут составлять 10^{-3} - $10^{-5} \%$ от общего числа бактерий (табл. 8).

Таблица 8

**Отношение числа сапротрофных бактерий
к общему числу микроорганизмов
как показатель чистоты воды (по В.И. Романенко, 1985)**

Состояние воды	$N_{\text{МПА}} / N_{\text{общ}} , \%$
Особо чистая	0.003 и меньше
Чистая	0.03
Грязная	0.3
Особо грязная	3 и более

3. $N_{\text{МПА:10}} / N_{\text{МПА}}$

Как уже было сказано выше, автохтонные микроорганизмы природных вод адаптированы к невысокому содержанию лабильного органического вещества и выделяются из воды преимущественно на средах с низкой его концентрацией. Поэтому изменение величины соотношения численности бактерий, растущих на обедненных средах и стандартном МПА или РПА может служить индикатором изменения трофического состояния воды. Н.А. Гавришова (1986) предложила величину этого соотношения использовать в качестве индекса трофности (I_T):

$$I_T = N_{\text{МПА:10}} / N_{\text{МПА}} ,$$

где $N_{\text{МПА:10}}$ – численность бактерий, вырастающих на МПА:10.

Как показано, в относительно бедных органическим веществом водах (мезотрофные и олиготрофные) наибольшее значение приобретает деятельность бактерий, вырастающих на голодных средах. В этих случаях индекс трофности может достигать значений от 10 до нескольких сотен. В загрязненных и высокотрофных водах преобладают бактерии, использующие высокие концентрации органического вещества, индекс трофности в таких водоемах составляет 2-3 и даже может снижаться до 1. По наблюдениям Н.А. Гавришовой, загрязнение регистрируется при индексе трофности менее 4.

2.5. Интенсивность некоторых микробиальных процессов

Помимо количественных и качественных показателей бактериоценозов водоемов для оценки состояния водных экосистем можно использовать различные функциональные характеристики микробных сообществ (величина бактериальной продукции, гетеротрофная активность микробных популяций, интенсивность дыхания и др.).

В основе функционирования водной экосистемы, как и любой другой, лежит круговорот вещества и энергии. Существенным его моментом является динамическое равновесие между синтезом органического вещества и его деструкцией. Определяющая роль в этом равновесии принадлежит микроорганизмам. Запас микробной биомассы определяет длину трофической цепи в водоеме, поэтому интенсивность микробной продукции можно рассматривать как индикатор функционирования экосистемы в целом.

По величине бактериальной продукции можно судить о трофности водоема. В.И. Романенко и С.И. Кузнецов (1972) приводят следующую типизацию водоемов в зависимости от величины бактериальной продукции (табл. 9).

Таблица 9

Характеристика водоёмов по показателям бактериальной продукции (по В.И. Романенко и С.И. Кузнецову, 1972)

Тип водоёма	Бактериальная продукция, мг С/м ³ в сутки
олиготрофно-мезотрофные	от 0.3 до 2.5
мезотрофные	от 2 до 50
мезотрофно-эвтрофные	от 17 до 116
эвтрофные	от 50 до 332

Величина бактериальной продукции также может увеличиваться при загрязнении водоема лабильным органическим веществом, за счет которого усиливается деятельность гетеротрофных бактерий.

Так, А.Н. Дзюбан (2003) приводит данные по величине бактериальной продукции в водах Тугурского залива (западная часть

Охотского моря). Продукция бактерий на некоторых станциях юго-восточного побережья отличалась более, чем в 3 раза (101 и 30 мкг С/ л сут). Наибольшей она была на тех участках, которые наиболее подвержены влиянию реки Тугур и многочисленных притоков, несущих аллохтонное органическое вещество, особенно во время отлива.

А.В. Брызгало с соавторами (1987) приводит результаты исследования продукции бактериопланктона олиготрофного водоема в районах с разной степенью загрязнения его сточными водами целлюлозно-бумажной промышленности (ЦБП). Продукция бактериопланктона в зонах действия сточных вод (310 мкг С/ л сут) более, чем в 3 раза превышала этот показатель в фоновой зоне (90 мкг С/ л сут).

Продукция органического вещества в виде биомассы гетеротрофных бактерий связана с поглощением растворенных органических веществ из водной массы (глюкозы, ацетата и др.). На основании многочисленных исследований зарубежных и отечественных авторов можно сказать, что гетеротрофная активность микробных популяций может быть охарактеризована скоростью потребления глюкозы или иного субстрата (Горленко В.М. и др., 1977). Определение гетеротрофной активности водных микроорганизмов позволяет изучить пути распада органических веществ, скорость их трансформации и минерализации, а также установить возможности экосистемы справляться с антропогенной нагрузкой. Таким образом, *гетеротрофная активность* микробных популяций может служить хорошим индикатором состояния водных экосистем.

Показатель гетеротрофной активности рекомендуется многими авторами для характеристики трофического уровня озер. Так, приводятся следующие величины гетеротрофной активности, определенной по скорости усвоения глюкозы: в низкопродуктивных водоемах 0,001-0,084 мкг/ л•ч; в мезотрофных до 8,3 мкг/ л•ч; в евтрофных – до 15 мкг/ л•ч. В сильнозагрязненных реках эти величины достигают очень высоких значений 29-198,9 мкг/ л•ч (цит. по В.Г. Драбковой с соавт.).

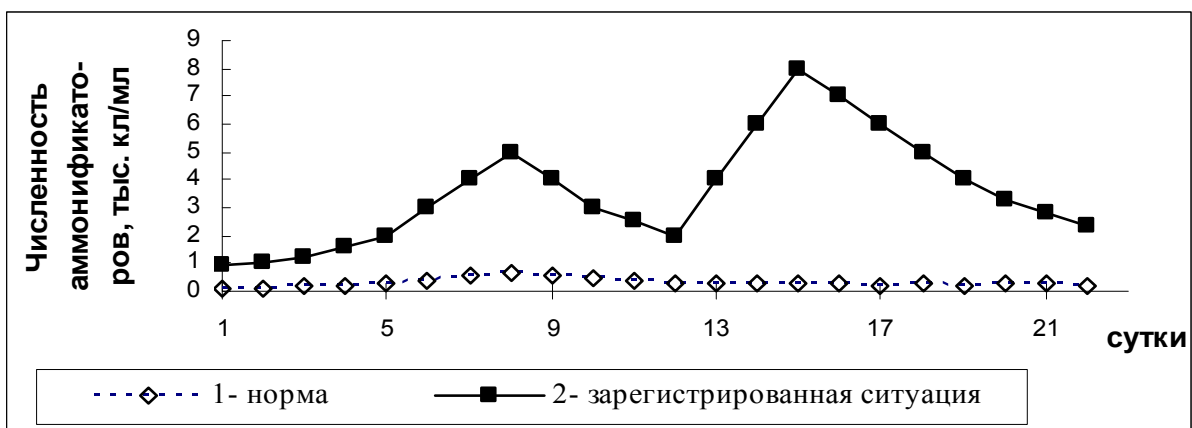
А.В. Брызгало с соавторами (1987) предложили использовать данный показатель для оконтуривания зон загрязнения водоема

сточными водами ЦБП. Ими было установлено, что гетеротрофная активность микроорганизмов, определенная по скорости потребления пировиноградной кислоты, тем выше, чем больше антропогенная нагрузка на систему: в фоновых районах гетеротрофная активность колебалась в пределах 0,05-0,53 мкг/ (л•ч) в зависимости от времени и места отбора пробы, что связано главным образом с численностью и активностью бактериопланктона; в загрязняемых районах в зависимости от степени и длительности воздействия загрязняющих веществ ЦБП гетеротрофная активность варьировала в значительных пределах (0,59-3,77 мкг / л•ч) и, как правило, была на порядок выше фоновой.

Органическое вещество, синтезированное в водоеме или поступающее извне, подвергается деструкции, при этом бактериальное звено играет наиболее значительную роль в этом процессе. Активность аэробных гетеротрофных микроорганизмов определяет скорость минерализации органического вещества и в целом процесса самоочищения водоема. Оценить интенсивность бактериальных процессов минерализации органических веществ можно по скорости потребления кислорода бактериопланктоном (*интенсивность дыхания*). Подобные исследования были проведены в прибрежных водах юго-восточной части Балтийского моря (В.П. Платпира, Р.С. Филмановича, 1992). Авторами было установлено, что средние величины дыхательной активности естественных микробных популяций отдельных районов Балтийского моря изменялись в пределах $0,09-0,34 \times 10^{-9}$ мг O_2 / кл•сут. Наибольшие значения дыхания бактериопланктона были зарегистрированы в летний период в наиболее загрязненных водах Рижского залива, что указывало на происходящие интенсивные процессы самоочищения.

Вопросы и задания для контроля знаний

1. Какие две группы водных микроорганизмов можно выделить с точки зрения их происхождения в водоеме?
2. Какова роль обеих групп в экосистеме водоемов?
3. Дайте определение понятию «сапробность».
4. Какие основные физико-химические и микробиологические показатели используют при выделении зон сапробности вод?
5. Какие индикаторные микроорганизмы можно использовать для определения степени сапробности вод?
6. Как изменяется состав морфологических форм микроорганизмов при увеличении степени загрязнения водоема?
7. Какие количественные микробиологические характеристики используют при биоиндикации состояния водоемов?
8. Какова индикаторная значимость показателя «общее количество бактерий»?
9. О чем свидетельствует увеличение численности сапротрофных (евтрофных, копиотрофных) бактерий, вырастающих на богатых питательных средах?
10. Какие коэффициенты можно использовать при оценке степени загрязнения вод?
11. Используя данные, приведенные в таблице 7, охарактеризуйте качество воды прибрежной части оз. Валдайского на станции 18. Ответ обоснуйте.
12. Какую информацию о состоянии водоема можно получить на основе анализа специфических функциональных групп бактерий?
13. О чем может свидетельствовать высокая численность сульфатвосстанавливающих бактерий?
14. Приведите другие примеры специфических физиологических групп микроорганизмов – индикаторов протекающих в водоемах процессов или присутствия определенных загрязняющих веществ.
15. В водоеме были зарегистрированы колебания численности аммонификаторов, что отражено на графике.



16. О каких процессах, происходящих в водоеме, может свидетельствовать наблюдаемая динамика численности данной группы микроорганизмов?

17. Перечислите функциональные характеристики микробных ценозов, которые можно использовать для индикации состояния природных вод. Приведите примеры.

Глава 3

Микроорганизмы – индикаторы состояния почв

3.1. Краткая характеристика почвенных микроорганизмов и возможность их использования в целях биоиндикации

Почва является главным резервуаром и естественной средой обитания микроорганизмов, которые принимают активное участие в процессах формирования и самоочищения почвы, а также являются необходимым звеном в круговороте всех биогенных элементов (углерода, азота, серы, фосфора, железа и др.).

Все почвенные бактерии являются компонентами различных биотических сообществ, складывающихся в почве в процессе их взаимоотношений с растениями, беспозвоночными животными, простейшими, грибами. Они способны осуществлять уникальные функции и участвовать в деструкции растительных остатков в ассоциациях с другими представителями почвенной биоты. Микробная система почв включает следующие функциональные группы микроорганизмов:

- участвующие в превращениях соединений азота (аммонификаторы, нитрификаторы, денитрификаторы, азотфиксаторы);
- осуществляющие различные этапы трансформации соединений углерода (аэробные и анаэробные гидролитики, расщепляющие полимеры; бактерии, вызывающие различные виды брожений и др.);
- принимающие участие в циклах серы, фосфора, железа и др.

Функционирование микробной системы почв происходит на основании взаимодействия различных эколого-трофических групп почвенных микроорганизмов. Взаимосвязь между ними осуществляется путем последовательного потребления пищевых ресурсов и протекания процессов разложения органических веществ. В результате микроорганизмы оказываются способными утилизировать множество различных соединений – природных и созданных человеком.

С.Н. Виноградский (1952) предложил разделить все почвенные микроорганизмы на две эколого-трофические группы, резко различающиеся по своим функциональным свойствам:

- *зимогенную*, использующую растительные остатки, поступающие в почву;

- *автохтонную*, использующую гумусовые соединения.

Он считал, что только автохтонная группа является постоянно действующей и истинно почвенной.

В дальнейшем к автохтонной группе стали относить медленно и плохо растущие на общепринятых питательных средах микроорганизмы. Одновременно появились и новые пары терминов, которые пытались соотнести с исходными названиями, например, *евтрофы (сапротрофы) – олиготрофы; гидролитики – микрофлора рассеяния* и др.

Е.Н. Мишустин (1979) дополнил зимогенную и автохтонную группировки двумя другими: *олиготрофной* и *автотрофной*. К зимогенной группировке он относил сапротрофные микроорганизмы, разлагающие органические остатки растительного и животного происхождения, попадающие в почву; к автохтонной – микроорганизмы, способные разлагать перегнойные соединения почвы; к олиготрофной – микроорганизмы, способные ассимилировать органические соединения из растворов низкой концентрации; к автотрофной – микроорганизмы, способные получать необходимую им энергию от окисления минеральных соединений.

В.С. Гузовым было предложено представление о функционировании микробных сообществ почв как о триаде: *гидролитики – копиотрофы – олиготрофы*. Гидролитики выделяют в среду внеклеточные гидролитические ферменты и осуществляют процесс гидролиза полимеров. Копиотрофы не образуют гидролаз, но с

большой скоростью потребляют растворимые соединения при их высокой концентрации в среде. Олиготрофы используют мономерные соединения в условиях их низкой концентрации в среде и являются основными утилизаторами органических веществ на конечных стадиях их превращения. Выделение трех функциональных групп позволило представить микробную систему почв как саморегулирующуюся биологическую систему, обеспечивающую разложение органического вещества в почве (Гузев В.С., 1988).

Однако все предложенные схемы являются лишь возможными вариантами механизмов взаимодействия микроорганизмов в сообществах почв, в каждом варианте механизмы взаимодействия разные и не могут быть уложены в какую-то единую схему функционирования почвенного микробного сообщества (Звягинцев Д.Г. и др., 1999).

Для каждого типа почв характерны микробные сообщества определенного состава* и структуры** с установившимися взаимоотношениями между различными группами почвенных микроорганизмов – от симбиотических до антагонистических, которые приводят к относительной стабильности микробных ценозов почв. Видовое разнообразие и соотношение таксонов в микробных комплексах почв определяются многими экологическими факторами, в первую очередь, такими, как содержание органического вещества, кислотность среды, концентрация солей, влажность. Разнообразие и структура микробных сообществ отражают адаптацию микроорганизмов к тем условиям, которые складываются в конкретной почве. Поэтому по изменениям в составе, структуре, активности сообществ микроорганизмов можно судить о процессах, происходящих в той или иной почве под воздействием разного рода факторов, в том числе при антропогенных воздействиях. Почвенные микроорганизмы являются чуткими индикаторами различных нарушений, что делает возможным осуществлять биоиндикацию по микробиологическим показателям.

* **Состав** (качественный состав) – список видов сообщества, видовое разнообразие.

** **Структура** – степень доминирования членов сообщества, соотношение таксонов.

Существуют различные приемы оценки состояния почв с использованием микробиологических показателей, основные из которых будут рассмотрены ниже.

3.2. Почвенное плодородие. Самоочищение почв

С помощью индикаторных микроорганизмов можно получать разностороннюю информацию, имеющую отношение к плодородию почвы и ее способности к самоочищению от различных видов химического и биологического загрязнения. В этих целях изучают такие показатели, как численность (общая, численность бактерий различных функциональных или эколого-трофических групп) и видовое разнообразие почвенной микробиоты, структура микробных ценозов почв, интенсивность процессов азотфиксации, нитрификации, дыхательной и ферментативной активности, санитарно-гигиенические и некоторые другие показатели.

3.2.1. Численность почвенных микроорганизмов

Количество микроорганизмов в разных почвах отличается большой динамичностью. Оно изменяется в зависимости от вида почв, способов ее обработки, содержания органических веществ, влаги, температуры, глубины залегания слоя, присутствия различного рода загрязнителей.

В зависимости от целей и задач исследования можно определять:

- общую численность микроорганизмов в разных почвах, например, с помощью прямого метода люминесцентного микроскопирования почвенной суспензии или используя метод электронной микроскопии;
- численность микроорганизмов, вырастающих на различных плотных питательных средах при посеве из разведений почвенных суспензий (эколого-трофические и функциональные группы).

Общая численность микроорганизмов почв возрастает по мере продвижения с севера на юг, окультуривание почв также приводит

к ее увеличению. В качестве примера в табл. 10 приведены данные по количественному содержанию почвенных микроорганизмов в зависимости от типа почвы и степени ее окультуренности.

Таблица 10

Численность микроорганизмов в разных почвах
(по Е.Н. Мишустину и др., 1979)

Почва	Состояние	Общая численность, 10^8 кл/г	Численность сапротрофов, 10^6 кл/г	Титр нитрификаторов
Подзолистые и дерново-подзолистые	Целинные	0,6-1,0	1,1	выше 0,01
	Окультуренные	10-20	2,6	0,01
Черноземы	Целинные	20-25	3,6	0,01
	Окультуренные	25-30	4,5	0,001

Общее число бактерий, учитываемое с помощью прямого метода, в 1000 раз превышает количество бактерий, учитываемое методом посева. Однако метод посева остается одним из распространенных в практике исследования почвенных микроорганизмов вследствие того, что позволяет учитывать численность различных эколого-трофических и функциональных групп, а также таксономический состав комплекса почвенных микроорганизмов.

Среди эколого-трофических групп в целях биоиндикации наиболее часто изучают группировку сапротрофных микроорганизмов, которая является надежным индикатором загрязнения почв органическим веществом.

Численность сапротрофов в незагрязненных подзолистых и дерново-подзолистых почвах обычно не превышает 1,5 млн. кл/г, при окультуривании почв эта цифра поднимается до 3-5 млн./г. Почвы южной зоны богаче сапротрофными бактериями (табл. 10).

При загрязнении почв органическим веществом количество сапротрофов значительно возрастает. Изучение динамики численности сапротрофов дает представление о ходе процесса самоочищения загрязненных почв. Так, в табл. 11 представлена динамика численности сапротрофных бактерий в почве опытного участка при внесении в нее навоза из расчета 36 т/га (по Е.Н. Мишустину и др., 1979).

Таблица 11

***Динамика численности сапротрофных бактерий
в почве опытного участка, тыс. кл/г***

Дата	Контроль	Почва, удобренная навозом
16.V	704	—
3.VI	1940	26900
17.VI	580	10500
15.VII	990	3500
12.IX	168	1210
20.XI	370	468

Данный пример подтверждает, что загрязнение почвы органическим веществом вызывает резкое увеличение численности сапротрофных бактерий. К концу вегетационного периода их количество начинает приближаться к первоначальному, однако полная нормализация наступает позднее. При бóльшей нагрузке процесс самоочищения мог бы протекать еще медленнее.

Из функциональных групп к числу индикаторных можно отнести нитрифицирующие бактерии, численность которых обычно хорошо коррелирует с другими биологическими показателями почвенного плодородия и отражает ход процесса самоочищения почв.

Нитрифицирующие бактерии завершают процесс минерализации азотсодержащих органических соединений, попадающих в почву. Они окисляют аммиак, образующийся при разложении органических соединений аммонифицирующими микроорганизмами, до нитритов и нитратов (рис. 3). По динамике развития процесса нитрификации можно получить представление о ходе самоочищения почвы. В загрязненных почвах усиление нитрификационной деятельности происходит обычно во второй фазе самоочищения, когда количество сапротрофных бактерий начинает заметно уменьшаться. Накопившиеся к этому времени продукты распада азотсодержащих органических соединений (в основном аммиак) делают возможным усиленное размножение нитрификаторов. Поэтому наличие больших количеств нитрифицирующих бактерий в почве указывает на относительно давнее

загрязнение азотсодержащими органическими веществами и интенсивные процессы их распада.

На рис. 6 для одной из загрязненных подмосковных почв наглядно показано, что для начала процесса самоочищения характерно заметное увеличение количества сапротрофных бактерий. Нитрификационный процесс активируется значительно медленнее. Однако, когда количество сапротрофов доходит почти до нормы, загрязненная почва резко отличается от контрольной энергией нитрификационного процесса, о чем свидетельствует значительное снижение титра* нитрификаторов.

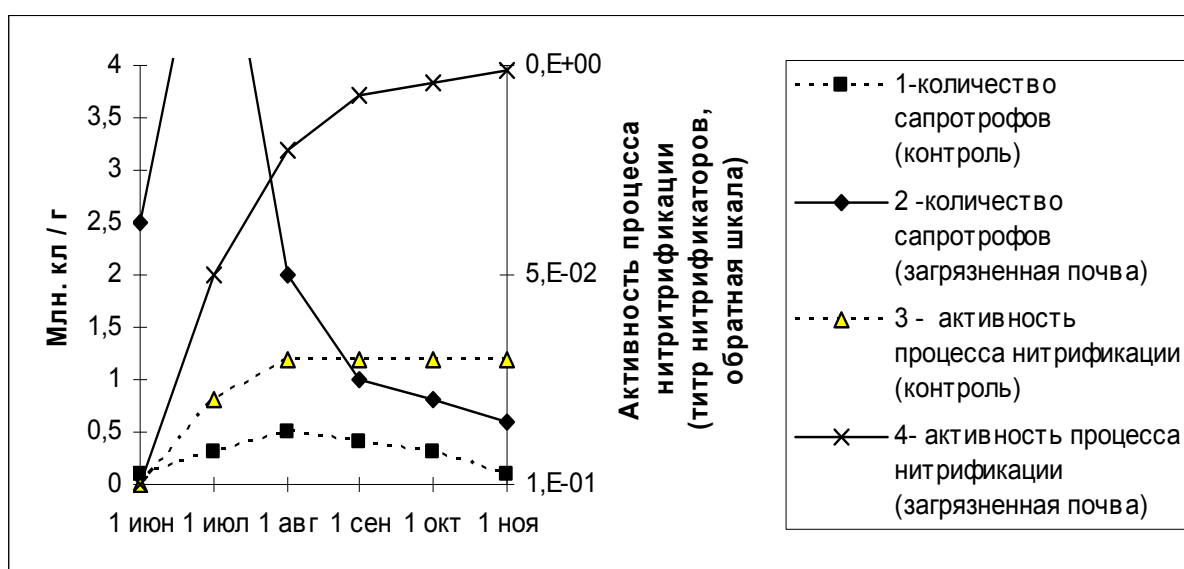


Рис. 6. Динамика количества сапротрофов и процесса нитрификации при самоочищении почвы (по Е.Н. Мишустину и др., 1979)

Таким образом, рассмотренные количественные показатели почвенной микробиоты могут служить индикаторами возраста почв, степени ее окультуренности, степени загрязнения органическим веществом, а также отражать ход процесса самоочищения.

* *Tитр* — это наименьшее количество исследуемого материала (в миллилитрах — для жидких субстратов или в граммах — для твердых), в котором обнаружена хотя бы одна жизнеспособная клетка искомого микроорганизма.

3.2.2. Видовое разнообразие почвенной микробиоты

Качественный состав микробиоты почв очень разнообразен: неспорообразующие и спорообразующие бактерии, актиномицеты, археобактерии, микоплазмы, цианобактерии (сине-зеленые водоросли), микромицеты и др.

По таксономическому составу можно судить о плодородии почв, содержании органического вещества, экологических условиях (кислотности, влажности, солености).

Так, в примитивных почвах, на поверхности которых поселяются первоначально лишь лишайники, пионерами среди бактерий являются представители актиномицетной линии – корине- и ноккардиоподобные бактерии или актинобактерии. Это грамположительные бактерии со сложным жизненным циклом, характеризующиеся мицелиальной стадией хотя бы на одной из стадий развития или тенденцией к мицелиальному росту. О доминировании этой группы бактерий в таких примитивных биогеоценозах сообщалось еще в работах Н.А. Красильникова (1958), Н.Н. Сушкиной и И.Г. Цюрупы (1973), Т.В. Аристовской (1980). Переходя на современный уровень таксономического лексикона, из этой сборной группы следует вычленить род *Arthrobacter*, как организм, доминирующий в олиготрофных местообитаниях. Это было подтверждено и при изучении бактериальных комплексов в почвах тундры Западного Таймыра (Лысак Л.В., Добровольская Т.Г., 1982), и в ряде сухих почв субтропиков (Добровольская Т.Г., Лысак Л.В., 1986). Было показано, что артробактер – типичный обитатель примитивных каменистых почв и сероземов, его доля составляла 55 – 80% от общего числа бактерий сапротрофного блока.

Работами этих же авторов было показано, что при переходе к более гумусированным почвам содержание артробактера падало, но увеличивалась доля бактерий р. *Bacillus*. Это объясняется тем, что большинство бацилл хорошо развивается при наличии в среде органического азота, поэтому они выдерживают конкуренцию с другими бактериями лишь тогда, когда в среде накапливаются белковые продукты микробного синтеза.

Е.Н. Мишустинным с соавторами были установлены четкие различия в доминирующих видах бацилл в северных и южных почвах (Мишустин Е.Н. и др., 1979). В почвах Крайнего Севера богато представлены *Bacillus agglomeratus* и *B. cereus*. Для подзолистых и дерново-подзолистых почв характерны *B. mycoides* и *B. virgulus*. В каштановых и черноземных почвах содержатся в большом количестве *B. megaterium*, *B. subtilis* и *B. mesentericus*. Эта последняя группа численно увеличивается также при окультуривании почв более северной зоны и поэтому может быть индикатором улучшения азотного режима почв.

В качестве примера можно привести данные, полученные при изучении почв различной степени окультуренности в Московской области (по Л.И. Рубенчик, 1972). В исследованных почвах учитывали общее число спорообразующих бактерий и количество клеток *B. cereus* и *B. mesentericus*. Было показано, что количество клеток этих видов бактерий резко отличалось в зависимости от степени окультуренности почв. Особенно большие различия проявлялись между целинной почвой (лес и опушка леса) и обрабатываемой (поля). Содержание клеток *B. mesentericus* от общего числа спорообразующих бактерий в обрабатываемой почве достигало 40%, в лесной почве – до 8,9%. Напротив, количество клеток *B. cereus* в обрабатываемой почве не превышало 13,4%, в то время как в целинной достигало 52,8%. Почва, обрабатываемая в течение трех лет, занимала промежуточное положение по содержанию этих микроорганизмов (табл. 12).

Таблица 12

Относительное содержание клеток видов *B. cereus* и *B. mesentericus* в почвах различной степени окультуренности, %

Почва	<i>B. mesentericus</i>	<i>B. cereus</i>
Целинная почва	0,2-8,9	31,7-52,8
Почва, обрабатываемая в течение 3 лет	10,3	18,7
Почва, обрабатываемая в течение длительного времени	32,8-40	2,8-13,4

Результаты этих исследований свидетельствуют о том, что окультуривание почв оказывает столь существенное влияние на количественный и качественный состав спорообразующих бактерий, что по видовому составу доминирующих бацилл можно судить о степени потенциального плодородия почв.

Индикаторами ценных агрономических качеств почвы являются целлюлозоразрушающие и азотфиксирующие микроорганизмы. Целлюлозоразрушающие бактерии начали изучаться в почвах еще в 1930-1950-е гг. Тогда было показано, что при окультуривании почв из-за изменения их свойств, в частности, азотного режима, происходит изменение состава целлюлозоразрушающих микроорганизмов. В естественных биоценозах в комплексе целлюлолитиков больше миксобактерий рода *Polyangium*. В окультуренных почвах больше цитофаг и вибрионов, причем минеральные удобрения способствуют размножению р. *Cellvibrio*, а внесение навоза стимулирует рост бактерий р. *Cytophaga*. Среди азотфиксаторов очень хорошо изучена экология бактерий рода *Azotobacter*. Азотобактер предпочитает гумусированные почвы с нейтральной реакцией среды, богатые доступными соединениями фосфора и достаточным количеством органического вещества и влаги. Комплекс таких условий встречается далеко не везде даже в зоне черноземов. Поэтому в северной зоне азотобактер обнаруживается лишь в сильно окультуренных почвах и на поймах. В зоне черноземов и более южных почв (каштановых и сероземов) он постоянно встречается в достаточно увлажненных (орошаемых) почвах. В неорошаемых почвах он размножается как весенний эфемер, когда почва бывает увлажнена.

По таксономическому составу можно также судить об экологических условиях, складывающихся в почве (кислотности, влажности, солености).

Так, распространение определенных групп бактерий может служить индикатором кислотности почв. Азотобактер, как уже было сказано выше, и артробактер чувствительны к низким значениям рН среды и обнаруживаются только в нейтральных либо слабощелочных почвах. В то же время спириллы с успехом развиваются и часто доминируют в кислых почвах. Кислые почвы (рН 5-5,4) предпочитают также бактерии рода *Beijerinckia*. Кроме

того, они выдерживают повышенное содержание в почве железа, алюминия и титана. Установлено, что при слабом ожелезнении почв указанные бактерии встречаются в 40 %, а при сильном – в 80 % образцов. Учитывая эти особенности, можно рассматривать бактерии рода *Beijerinckia* как индикатор процесса ожелезнения (латеризации) почвы.

Влажность также определяет качественное разнообразие бактериальных комплексов. В почвах с постоянным переувлажнением – торфяниках – и сопряженных с ними почвах окраин болот доминируют грамотрицательные формы бактерий, выделенные в самостоятельный класс *Proteobacteriae*. Это подвижные, палочковидные либо спиральные и вибриоидные формы бактерий, атипичные, с простым жизненным циклом. Большинство протеобактерий, обитающих в торфяниках, представлены спираллами либо факультативно-анаэробными формами, относящимися к 5 родам из семейств *Enterobacteriaceae* и *Vibrionaceae*, т.е. типичными гидробионтами (Головченко А.В. и др., 1993). При низком содержании влаги (почвы пустынь) доминируют бактерии актиномицетной линии. Все они устойчивы к высушиванию и повышенной инсоляции, чему способствует образование ими конидий и каротиноидных и меланоидных пигментов (Добровольская Т.Г. и др., 1996).

Многие формы бактерий чувствительны к повышенной концентрации солей в почве. Галотолерантными являются лишь бациллы, микрококки и некоторые актиномицеты. Так, например, почвы с высоким содержанием солей являются специфическим местообитанием коринеподобных бактерий рода *Rhodococcus*, некоторые виды которых способны к росту при концентрации NaCl в среде до 10% (Добровольская Т.Г. и др., 1996).

3.2.3. Изменения в структуре микробных ценозов почв

В процессе разложения растительных остатков в структуре микробных ценозов почв происходит смена бактериальных доминант, которая соответствует следующей схеме:

псевдомонады (граммотрицательные неспорообразующие бактерии) – *бациллы* (грамположительные спорообразующие аэроб-

ные бактерии) – *бактерии актиномицетной линии* (грамположительные бактерии со сложным жизненным циклом, характеризующиеся мицелиальной стадией хотя бы на одной из стадий развития или тенденцией к мицелиальному росту) – *олиготрофы* (бактерии, способные расти при низких концентрациях питательных веществ, усваивая их из рассеянного состояния – «микрофлора рассеяния»).

Такой сукцессионный ряд был выявлен еще Е.Н. Мишустиным и А.Г. Тимофеевой (1944) в модельных опытах по деструкции растительного опада. К настоящему времени установлено, что такая тенденция к смене бактериальных доминант прослеживается во всех типах зональных почв (Звягинцев Д.Г. и др., 1998).

Результаты этих исследований могут быть использованы в биоиндикационных целях. Анализируя структуру бактериальных сообществ, можно получать информацию о состоянии органического вещества в почвах, что в свою очередь, позволяет судить о следующих процессах:

- ходе процесса самоочищения почв при загрязнении их органическим веществом;
- темпах деструкции органического вещества;
- возрасте почв и степени их окультуренности.

Самоочищение почв. При загрязнении почвы органическим веществом, богатым легкодоступными соединениями, быстро увеличивают свою численность грамотрицательные неспорообразующие бактерии, например, псевдомонады (*p. Pseudomonas*), различные представители семейства *Enterobacteriaceae* и другие. Они начинают процесс деструкции привнесенного органического вещества, используя водорастворимые мономеры. Когда же в почве легкодоступные вещества исчезают и остаются трудно мобилизуемые соединения, клетки грамотрицательных неспорообразующих бактерий быстро отмирают, а начинают преобладать грамположительные бактерии-гидролитики: бациллы (*p. Bacillus*) и актиномицеты на более поздних стадиях. Доминирование бацилл связано с их способностью разрушать крахмал, пектин, лизировать клеточные стенки грибов и дрожжей, то есть реутилизировать микробную биомассу. Актиномицеты осуществляют в трофической цепи любой экосистемы функции микро-

бов-редуцентов, основная их роль состоит в разложении таких сложных полимеров, как лигнин, хитин, целлюлоза, гумусовые соединения. Таким образом, по соотношению бактериальных таксонов можно судить об этапах самоочищения почвы от внесенного органического вещества.

Темпы деструкции органического вещества. По таксономическому составу бактериальных сообществ можно также составить представление о скорости деструкции органического вещества в почвах. Так, например, доминирование грамотрицательных неспорообразующих бактерий в почвах свидетельствует о замедленной скорости минерализации растительных остатков, так как среди этой группы микроорганизмов практически отсутствуют гидролитики. Подобную картину можно наблюдать, например, в торфяниках или почвах, испытывающих временное избыточное увлажнение. Напротив, преобладание в почвах бактерий актиномицетной линии, большинство из которых обладает гидролитической активностью, указывает на быстрые темпы деструкции растительного опада.

Доминирование представителей родов *Cytophaga*, *Cellulomonas* и порядка *Mycobacteriales* свидетельствует об активных процессах разложения целлюлозы. Обнаружение бактерий рода *Nitrophomicrobium* позволяет предположить их участие в использовании метанола – продукта окисления метана, образующегося на конечном этапе деструкции органического вещества в результате деятельности метаногенных бактерий, и, следовательно, предположить протекание процесса метаногенеза.

Возраст почв и степень окультуренности. О возрасте почв и степени их окультуренности можно судить по следующим показателям:

- абсолютное количество спорообразующих аэробных бактерий и актиномицетов;
- доля спорообразующих аэробных бактерий и актиномицетов в структуре микробного ценоза почвы;
- видовой состав доминирующих бацилл.

Отличия этих показателей в почвах различных природно-климатических зон впервые были установлены академиком Е.Н. Мишустиным, показавшим, что закон географической зональности применим к микроорганизмам (Мишустин Е.Н., 1954, 1976). Позднее работами сотрудников кафедры биологии почв факультета почвоведения МГУ под руководством Д.Г. Звягинцева было показано, что влияние географического фактора на расселение микробных сообществ проявляется через комплекс экологических факторов, таких как тип субстрата, кислотность, влажность, температура, засоленность почв (Звягинцев Д.Г. и др., 1998).

Е.Н. Мишустин и М.И. Перцовская (1954) приводят следующие данные, характеризующие общее количество бацилл в различных почвах (табл. 13).

Таблица 13

Общее количество бацилл в различных почвах, кл/г

Почва	Количество клеток бацилл в 1 г
Целинные почвы тундры	до 10^2
Целинные почвы тайги	» $4 \cdot 10^2$
Окультуренные почвы тайги	» 10^3
Почвы луго-лесной зоны:	
целинные лесные	» $3 \cdot 10^3$
целинные луговые	» $4 \cdot 10^3$
окультуренные	» $6 \cdot 10^3$
Почвы сухих степей:	
целинные	» $3 \cdot 10^4$
окультуренные	» $6 \cdot 10^4$
Почвы пустынь:	
целинные	» $4 \cdot 10^4$
окультуренные	» $8 \cdot 10^4$

Из представленных данных хорошо видно, что по мере продвижения с севера на юг количество бацилл в почвах увеличивается. Это свидетельствует о том, что молодые почвы (особенно тундровые) содержат меньше спорообразующих аэробных бактерий, деятельность которых связана с превращением более устойчивых органических соединений. В более старых по возрасту южных почвах численность этих микроорганизмов возрастает.

Таким образом, с увеличением возраста почв в них повышается численность бацилл.

Такая же закономерность была установлена и в отношении актиномицетов, численность которых повышается с севера на юг (Мишустин Е.Н., Мирзоева В.А., 1953).

В различных географических зонах в одном и том же горизонте А изменяется не только абсолютное количество бацилл и актиномицетов, но и их доля в структуре микробного ценоза почвы. Так, в почвах тундры и тайги на долю бацилл приходится лишь 1%, актиномицетов – 1,5 %. Это указывает на слабое развитие почвообразовательного процесса в северной зоне. В луговой зоне доля бацилл в подзолистых и дерново-подзолистых почвах значительно выше, чем в северных – 12-15%, актиномицетов 8-28%. В черноземах доля бацилл увеличивается до 20-25%, актиномицетов – до 35%.

Кроме того, как уже было сказано выше, молодые северные и более старые южные почвы отличаются по доминирующим видам бацилл. Видовой состав доминирующих бацилл изменяется и при окультуривании почв более северной зоны и поэтому может быть индикатором улучшения азотного режима почв (см. п. 3.2.2. настоящей главы).

Анализ структуры бактериальных сообществ, кроме этого, позволяет проводить дифференциацию городских почв от ненарушенных зональных.

Так, Н.Н. Куличевой с соавторами при изучении структуры бактериальных комплексов различных почв было установлено, что в городских почвах повышается значимость бактерий семейства *Enterobacteriaceae* и рода *Rhodococcus*. Установлено, что если в исследуемом бактериальном комплексе доли энтеробактерий и родококков превышают 13% и 2% соответственно, то с большой вероятностью можно говорить о том, что данный образец почвы взят с территории города (Куличева Н.Н. и др., 1996).

3.2.4. Биологическая активность почв

Почвы характеризуются не только численностью и составом различных групп микроорганизмов, но и их суммарной активностью, а также активностью биохимических процессов, обуслов-

ленных наличием в почве определенного запаса (пула) ферментов, выделенных прижизненно в результате деятельности растений и микроорганизмов, а также аккумулярованных почвой после разрушения клеток. Все эти показатели включаются в общее понятие **биологической активности почв** (Бабьева И.П., Зенова Г.М., 1989).

Биологическая активность почв характеризует масштабы и направление процессов превращения веществ и энергии в природных экосистемах суши, интенсивность переработки органических остатков и разрушения минералов. Именно биохимические процессы, лежащие в основе почвообразования, обуславливают плодородие почв.

Основными интегральными показателями биологической активности почвы являются:

- общая микробная численность;
- численность основных групп почвенных микроорганизмов (почвенных сапротрофных бактерий, актиномицетов, почвенных микромицетов);
- показатели интенсивности трансформации соединений углерода и азота в почве («дыхание» почвы, динамика азота аммиака и нитратов в почве, азотфиксация, аммонификация, нитрификация и денитрификация);
- активность ферментативных систем и др. показатели.

Различают потенциальную и актуальную биологическую активность почв.

Потенциальная биологическая активность – та активность, которая обнаруживается в лаборатории при оптимальных условиях для протекания данного процесса: ферментативная активность, активность процессов нитрификации, азотфиксации, денитрификации, дыхания, определение численности микроорганизмов прямым методом и методом посева. Эти показатели дают информацию только о потенциальных возможностях микроорганизмов в почве, но не дают представления об активной их части в определенный момент.

Действительная или **актуальная природная биологическая активность почв** – та активность, которая определена in si-

tu (полевые методы определения дыхания, азотфиксации, денитрификации). Дело в том, что общая численность и биомасса почвенных микроорганизмов могут совершенно не отражать их активность. Микроорганизмы в почве, несмотря на их обилие, могут длительное время находиться в состоянии покоя, переносить неблагоприятные условия и длительное время не реализовывать свою потенциальную активность.

В целях биоиндикации результативно использование показателей, отражающих как актуальную, так и потенциальную биологическую активность почв.

Из показателей потенциальной биологической активности почв рассмотрим ее ферментативную активность.

Ферментативная активность почв – это совокупность процессов, катализируемых внеклеточными (иммобилизованными на почвенных частицах и стабилизированными в почвенном растворе) и внутриклеточными ферментами почвенной биоты. Вследствие комплексного источника поступления ферментов (микроорганизмы, растения, животные) почва является самой богатой системой по ферментативному разнообразию и ферментативному пулу (до 1000 ферментов).

Активность почвенных ферментов затрагивает превращения углерода, азота, фосфора, серы и окислительно-восстановительные процессы и, следовательно, отражает напряженность биохимических процессов в почве. Ферментативная активность коррелирует с основными агрохимическими характеристиками (табл. 14).

Таблица 14

**Корреляционные связи ферментативной активности почв
с некоторыми агрохимическими свойствами ($p < 0.05$)
(по И.Н. Безкоровайной, 2001)**

Показатели	Уреаза	Протеаза	Каталаза
Гумус	0.45	0.72	0.46
Азот	0.77	0.57	0.48
Фосфор общий	0.30	0.31	-0.27
pH _{KCl}	0.53	0.45	0.72
Емкость поглощения	0.62	0.48	0.39
N-NH ₄	0.88	0.89	-0.43

Для активности ферментативного пула большое значение имеют условия среды (субстрат, влажность, температура, рН и т.д.). Условия почвенной среды, оптимальные для микроорганизмов и высших растений, являются оптимальными и для ферментативной активности. Каждый отдельный экологический фактор при различных сочетаниях других экологических параметров будет иметь неодинаковое значение. Например, в почвах лесостепной зоны большая доля варьирования ферментативной активности обусловлена дефицитом тепла, а в почвах степной – дефицитом влаги.

Почвы по ферментативной активности различаются в соответствии с их эколого-генетическими особенностями. Так, в генетическом ряду от дерново-подзолистых почв к серым лесным и черноземам активность гидролитических ферментов возрастает в соответствии с увеличением общей микробной активности, содержанием гумуса и органических соединений азота и фосфора.

В пределах подтипов и разновидностей значение имеют уже другие факторы. Например, в пределах разновидностей черноземов активность отдельных ферментов определяется не содержанием органических соединений, а значениями рН и содержанием карбонатов, оказывающих ингибирующее влияние на активность гидролитических ферментов.

Почвы естественных ландшафтов имеют повышенную ферментативную активность, целинная почва, после того как на ней скошены травы, становится биологически активнее старопахатной. Окультуривание почв способствует росту активности некоторых ферментов. По мере роста окультуренности почв возрастает активность ферментов азотного и фосфорного обмена, активность оксидоредуктаз. В хорошо окультуренной дерново-подзолистой почве по сравнению со слабоокультуренной в 3 раза выше активность протеазы, в 2 раза – уреазы и дегидрогеназы, активность фосфатазы выше в среднем в 1,6 раза (Тульская Е.М., Звягинцев Д.Г., 1986).

Развитие эрозионных процессов ухудшает основные почвенно-экологические параметры, контролирующие ферментативный пул, и приводит к снижению ферментативной активности почв.

Степень эродированности адекватно отражается снижением, в частности, протеазной активности почв.

Таким образом, относительный уровень ферментативной активности почв служит индикатором интенсивности и направленности почвообразовательных процессов как в естественных условиях, так и при различных антропогенных воздействиях на почву.

Для диагностики состояния почвы и происходящих в ней процессов необходимо, кроме того, знать актуальную биологическую активность. Актуальная биологическая активность может быть определена через какой-то всеобщий процесс, осуществляемый всеми микроорганизмами или даже всей почвенной биотой, интенсивность которого можно измерить непосредственно в естественных условиях. Таким интегральным показателем биологической активности является, например, интенсивность выделения CO_2 (почвенное «дыхание»).

Перечень показателей, которые будут использованы в целях биоиндикации, определяется целями исследования, характером землепользования, природой и интенсивностью загрязнения. На первом этапе исследований, как правило, используют наиболее простые и быстро определяемые информативные интегральные показатели: «дыхание» почвы, общую численность микроорганизмов, динамику азота аммиака и нитратов.

Дальнейшее углубленное исследование проводится в соответствии с полученными результатами и общими задачами исследования. Так, почву можно считать ненарушенной по показателям биологической активности при изменениях в микробиологических показателях не более 50% и биохимических – не более 25% по сравнению с такими же для контрольных, принятых в качестве чистых незагрязненных почв.

3.2.5. Присутствие термофилов

К термофильным относят микроорганизмы, которые способны развиваться при высоких температурах. Они достаточно широко распространены в природе, встречаются в горячих источниках, почвах пустынь и тропиков, в навозе, компосте. Исходя из того факта, что развитие мезофильных микроорганизмов даже в южных почвах прекращается при температуре $50 - 55^{\circ}\text{C}$, к тер-

мофильным микроорганизмам почвы относят формы, которые активно размножаются при температуре 60° С и выше (Мишустин Е.Н. и др., 1979).

Исследованиями Е.Н. Мишустина (1950), а также ряда других отечественных и зарубежных авторов было установлено, что целинные почвы любой почвенно-климатической зоны бедны термофильными микроорганизмами, их количество колеблется в пределах нескольких сотен клеток на 1 г почвы. По мере окультуривания целинных почв посредством внесения органических удобрений количество термофилов возрастает, поскольку они вносятся с навозом или компостами, богатыми этими микроорганизмами (табл. 15).

В почвах термофилы сохраняются в латентном состоянии или размножаются довольно слабо. Малочисленность термофильных микроорганизмов в целинных почвах позволяет рассматривать их как группу, не свойственную биологически чистым почвам. Связь между содержанием термофилов и внесением больших доз органических удобрений дает возможность использовать численность микроорганизмов данной группы как индикатор степени окультуренности почв.

Таблица 15

***Содержание термофильных микроорганизмов
в почвах различных зон $\times 10^3$ кл/г (по Е.Н. Мишустину, 1950)***

Зона	Место взятия проб	Почва		
		целина	слабо-окультуренная	огородная
Тундровая и таежная	Район Игарки	0,4 – 0,7	0,4 – 2,4	40-60
Смешанных лесов	» Подольска	0,4 – 1,0	4,0	170-280
Лесостепная и степная	» Самары	0,1 – 1,5	1,2 – 4,0	250
Сухих степей	» Фрунзе	0,1 – 0,3	0,7 – 6,0	30-34
Высокогорная	Альпийский луг	0,3	—	—

«—» нет данных

Кроме того, данная группа микроорганизмов может быть использована в качестве индикатора при выяснении характера загрязнения почвы. Такая необходимость возникает при оценке са-

нитарного состояния почв. В этом случае численность термофильных микроорганизмов определяют дополнительно к показателю БГКП, отражающему содержание в почве бактерий группы кишечных палочек. Более подробно о значении термофильных микроорганизмов при санитарной оценке почв будет сказано ниже (см. гл. 5, п. 5.2.7).

3.2.6. Микробиологический метод определения потребности почвы в основных макро- и микроэлементах

Важнейшим условием плодородия почв является запас элементов питания. Кислотные дожди, особенно в регионах с гумидным климатом, выщелачивают из почвы Ca, K, Na, Mg, а это ведет к изменению их химических и физических свойств, нарушается режим питания высших растений, снижается численность бактерий и актиномицетов, нарастает почвенный токсикоз (особенно сильно – на песчаных почвах). Ранняя диагностика дефицита питательных элементов в почве возможна на основании определения потребности почв в биогенных элементах с помощью микроорганизмов.

Еще в 1869 г. Ролен (Raulin, 1869) впервые высказал мысль о том, что микроорганизмы могут быть использованы для определения потребности почв в тех или иных элементах минерального питания высших растений. Несколько позднее В.С. Буткевич (1909), а затем Кристенсен и Ларсен (Christensen, Laarsen, 1911) предложили микробиологический способ суждения о содержании в почве минеральных элементов. Эти исследователи исходили из того, что отношение растений к азоту, фосфору, калию и другим элементам принципиально не отличается от отношения к данным элементам некоторых микроорганизмов. Поэтому последние могут служить индикаторами содержания в почве минеральных соединений, усваиваемых растениями (Рубенчик Л.И., 1972).

Микробиологический метод имеет ряд преимуществ:

- определения проводят в лабораторных условиях, и результаты получают уже через несколько суток, в отличие от вегетационных и полевых опытов, которые требуют длительного времени и подвержены влиянию метеорологических факторов;

- позволяет определить в какой форме (доступной для растений или нет) находится тот или иной элемент в почве, в отличие от химических методов, которые позволяют сделать вывод лишь об общем содержании конкретного элемента в почве.

Определение потребности почвы в фосфоре, калии, кальции

В.С. Буткевич (1909) для определения содержания фосфора в почве применил в качестве индикаторной культуры микроскопический гриб *Aspergillus niger*, а затем *A. oryzae*.

С.Н. Виноградский (1925, 1927), Е.Е. Успенский (1930), Чан (Tchan, 1946), Крючкова (1947) и другие разработали методику определения фосфора, калия и кальция на почвенных пластинках с помощью *Azotobacter chroococcum* или *A. agile* в качестве индикаторных микроорганизмов (Рубенчик Л.И., 1972).

При ориентировочном учете изготавливают пять почвенных пластинок в чашках Петри:

- 1 – без добавления минеральных солей;
- 2 – с кальцием, калием и фосфором (Са, К, Р);
- 3 – с кальцием и фосфором (Са, Р);
- 4 – с кальцием и калием (Са, К);
- 5 – с калием и фосфором (К, Р).

Ко всем навескам почвы добавляют маннит и культуру азотобактера. Готовые почвенные пластинки помещают в термостат при 30⁰ С. Через 20-24 часа на поверхности пластинок вырастают характерные колонии азотобактера в виде мелких полупрозрачных капель буровато-коричневого цвета. По количеству выросших на пластинках колоний можно оценивать почву на содержание в ней фосфора, калия и кальция. Например, если во всех чашках выросло одинаковое число колоний, то это свидетельствует о том, что почва обеспечена всеми тремя элементами. Если во 2-й чашке больше колоний, чем в 3-й, то почва отзывчива на калий. Сопоставление 4-й и 5-й чашек со второй позволяет судить о потребности почвы соответственно в фосфоре и кальции. Данная методика является комплексной, так как дает возможность одновременно оценивать потребность почвы в трех указанных элементах.

Для более детальной характеристики потребности почвы в конкретном элементе и его количестве вышеуказанную схему несколько изменяют. Например, при ориентировочном учете было установлено, что почва отзывчива на фосфор. Далее поступают следующим образом: готовят серию почвенных пластинок, добавляют маннит и культуру азотобактера и вносят различные дозы фосфора. После инкубации подсчитывают число выросших колоний, и путем сопоставления их количества и внесенных доз фосфора на разных почвенных пластинках делают заключение о потребности почвы в доступном для растений фосфоре.

Определение потребности почв в микроэлементах

Микробиологические методы применяют для определения таких микроэлементов, как кобальт, цинк, марганец, медь, молибден.

Индикаторными микроорганизмами при определении микроэлементов служат *Aspergillus*, *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Rhizobium* и некоторые другие.

Общая схема количественного учета микроэлементов в почвах заключается в следующем. Сначала в лаборатории получают стандартную кривую роста индикаторного микроорганизма в зависимости от содержания изучаемого микроэлемента. Для этого готовят серию питательных сред с возрастающим количеством микроэлемента, которые засевают индикаторной культурой. Через 7-8 дней определяют сухую биомассу и строят график зависимости биомассы от концентрации микроэлемента: на оси абсцисс откладывают концентрацию элемента, на оси ординат – сухой вес. После этого проводят исследование конкретной почвы на содержание в ней данного микроэлемента. Для этого индикаторный микроорганизм засевают в питательную среду без искомого микроэлемента и вносят в нее испытуемую почву (примерно 125 мг на 50 мл среды). После периода инкубации определяют биомассу индикаторного микроорганизма, и, сопоставляя ее с соответствующей точкой стандартной кривой роста, находят количество того или иного микроэлемента в исследуемой почве.

Подобная методика была применена, в частности, для определения содержания цинка в почвах Висконсина (США), в раз-

личных почвах Японии, Англии. В качестве индикаторной культуры при этом использовали микроскопический гриб *Aspergillus niger*. Эту же культуру применяли для определения содержания в тех же почвах молибдена, меди, марганца.

При обнаружении кобальта хорошие результаты были получены с использованием в качестве индикаторного микроорганизма *Rhizobium japonicum* (Kliewer et al., 1964). При этом учет кобальта с помощью данного микроорганизма оказался в 1000 раз чувствительнее колориметрического метода, так как обнаруживал от 0,005 до 0,08 мкг/кг этого микроэлемента в почве, а также других субстратах (вода, растительные материалы), в которых наличие некоторых металлов мешает применению химических методов определения (цит. по: Рубенчик Л.И., 1972).

3.3. Индикация антропогенных нарушений почв

Практически все виды человеческой деятельности сопровождаются нарушением состояния окружающей среды, в том числе и почвы. Основные нарушения почвенного покрова связаны со следующими видами антропогенного воздействия на почву:

1. Физическое воздействие (рекреация, выпас скота, тяжелая сельскохозяйственная техника, орошение, водная эрозия, открытая добыча полезных ископаемых, строительство, военные действия и т.п.).

2. Химическое загрязнение (атмосферные выпадения в радиусе деятельности промышленных предприятий и добычи полезных ископаемых, нефть и ее производные, отходы сельхозпроизводства и переработки сельхозпродуктов, минеральные удобрения и пестициды, радионуклиды и т.п.).

3. Биологическое загрязнение (объекты микробиологического производства белка и белково-витаминных концентратов; энтомопатогенные бактерии, используемые в биологической борьбе с разного рода вредителями; возбудители инфекционных и инвазионных болезней).

Все виды воздействий в первую очередь сказываются на микронаселении почв как наиболее чувствительном и быстро реагирующем компоненте любой экосистемы. Поэтому мониторинг почв при использовании микробиологических показателей позволяет уже на ранних стадиях отслеживать начавшиеся изменения и предупреждать их последствия.

Ниже будут рассмотрены отдельные примеры биодиагностики различных антропогенных нарушений почв по микробиологическим показателям.

3.3.1. Физические воздействия на почвы

Мелиоративные мероприятия являются значительными антропогенными факторами, влияющими на состояние экосистем.

В частности, мелиоративные мероприятия по освоению выработанных торфяников оказывают существенное влияние на микробное сообщество почв. На примере низинных торфяников показано, что при хозяйственном их использовании, особенно при рекультивации выработанных торфяников*, происходит перестройка структурной организации актиномицетных сообществ. Информация о комплексе почвенных актиномицетов может быть использована для микробиологической диагностики торфяных почв по степени окультуренности. Так, в качестве индикаторных предложено использовать два рода – р.р. *Micromonospora* и *Streptomyces*. В торфяной почве рекультивированного (сельскохозяйственная рекультивация) выработанного торфяника представители микромоноспор встречаются в количестве, соизмеримом с количеством стрептомицетов, и максимальное значение индекса обилия стрептомицетов составляет $4,2 \cdot 10^5$ КОЕ/г почвы. Для заключения об отсутствии сельскохозяйственной рекультивации торфяника достаточным основанием будут данные об отсутствии или крайне редкой встречаемости в образцах микромоноспор и индексе обилия стрептомицетов ниже $2,1 \cdot 10^4$ КОЕ/г почвы (Зенова Г.М., Звягинцев Д.Г., 1998).

* **Выработанные торфяники** – техногенные ландшафты, образованные промышленной добычей торфа на топливо и удобрение.

В качестве микробиологических индикаторов процессов восстановления отвалов вскрытых пород, образующихся при открытой добыче полезных ископаемых, могут выступать ферментативная активность почв и процесс почвенного «дыхания». Так, показано, что при естественном восстановлении отвалов происходит увеличение целлюлозоразлагающей активности и ферментов азотного метаболизма, а также интенсификация процессов почвенного «дыхания» (Шугалей Л.С. и др., 1996).

Другим примером физического воздействия на почвенный покров являются рекреационные нагрузки.

Изменение почвенных параметров при рекреационном воздействии касается, прежде всего, сложения и структуры почвы, снижения порозности, ухудшения аэрации, дренажа. В результате изменяются условия жизни всех почвенных обитателей – от микронаселения до высших растений и позвоночных животных. Рекреационное воздействие особенно сильно проявляется в лесных биогеоценозах. В рекреационных зонах под различными лесными фитоценозами обычно снижается видовое разнообразие и общая численность микроорганизмов, численность неспорообразующих бактерий, актиномицетов, замедляется разложение клетчатки, снижается активность процесса нитрификации (Зенова Г.М., 1984; Микроорганизмы и охрана почв, 1989).

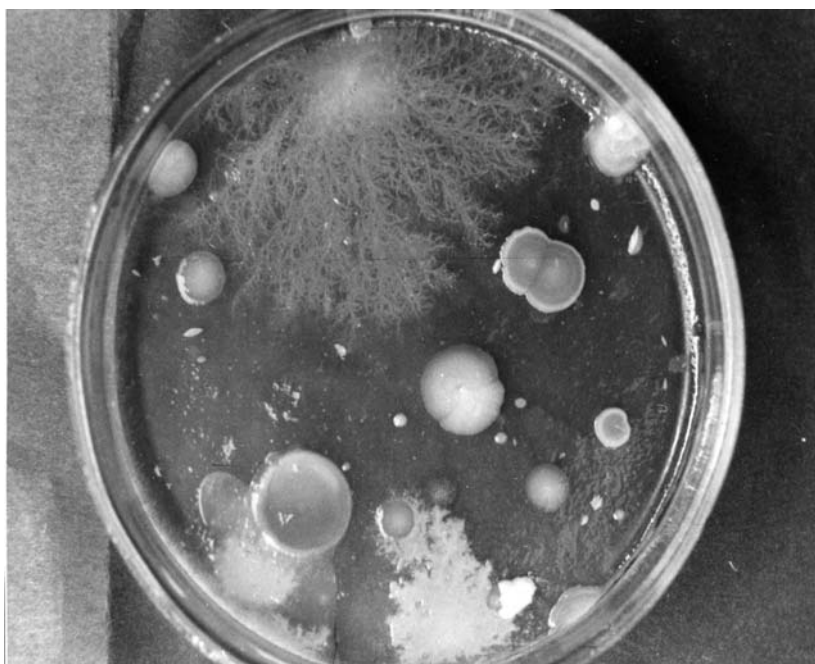
В качестве примера можно привести некоторые данные, полученные автором при изучении рекреационного воздействия на почву на территории биостанции «Улейма» (Угличский р-н) Ярославского госуниверситета (табл. 16)

Таблица 16

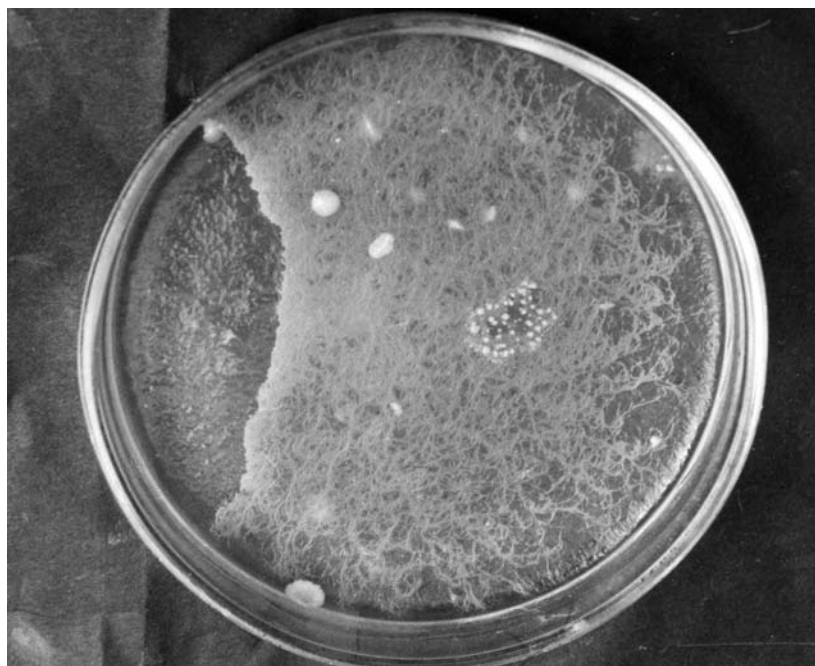
Численность отдельных групп микроорганизмов в почвах, подверженных различному антропогенному воздействию
(Кондакова Г.В., 1998)

Почва	Общая численность, $\times 10^8$ кл/г	Численность м/о на МПА, $\times 10^6$ КОЕ/г	Численность м/о на КАА		Численность м/о на МПА:100, $\times 10^6$ КОЕ/г
			бактерии $\times 10^6$ КОЕ/г	актиномицеты $\times 10^5$ КОЕ/г	
Лесная	2,2+0,1	2,0+0,2	1,8+0,2	1,2+0,2	1,2+0,2
С территории лагеря	1,8+0,1	1,1+0,2	0,3+0,9	0,4+0,9	0,5+0,9

Так, было показано, что в почвах, испытывающих постоянную антропогенную нагрузку (район студенческого лагеря), снизилась численность микроорганизмов различных экологотрофических групп (сапротрофы – олиготрофы), актиномицетов, уменьшилось видовое разнообразие, увеличилась доля бацилл (рис. 7), что в целом свидетельствовало о снижении активности минерализационных процессов (Кондакова Г.В., 1998).



А



Б

Рис. 7. Видовое разнообразие микроорганизмов лесной почвы (А) и почвы с территории студенческого лагеря (Б), рост на МПА

3.3.2. Химическое загрязнение почв

Химическое загрязнение почв по своему воздействию значительно превосходит все виды физических воздействий. Реакция бактерий и грибов на химическое загрязнение является наиболее изученной к настоящему времени, поэтому так часто в качестве тест-объектов используются именно эти организмы. Большинство загрязнителей (нефть и нефтепродукты, тяжелые металлы, антибиотики, пестициды) влияют на численность, видовой состав и жизнедеятельность почвенной микробиоты. Они ингибируют процессы минерализации и синтеза различных веществ в почве, подавляют дыхание почвенных микроорганизмов, вызывают микробостатический эффект, способствуют появлению мутагенных свойств.

Ниже приводятся примеры биоиндикации некоторых типов химического загрязнения почв по микробиологическим показателям.

Нефтяное загрязнение

Загрязнение почв нефтью и нефтепродуктами приводит к заметному сдвигу в составе биоты. Почва обогащается микроорганизмами, способными разлагать углеводороды. Количественное определение содержания в почвах углеводородоокисляющих микроорганизмов было положено Г.А. Могилевским в основу метода биологической индикации на газовые и нефтяные месторождения. В 1937 г. он запатентовал микробиологический метод прогнозирования залегания нефти и газов (Рубенчик Л.И., 1972). Газообразные углеводороды, главным образом метан и пропан, поступают в почву из газоносных слоев и частично «прорываются» через микробный барьер в атмосферу. В верхних слоях почвы в аэробных условиях они окисляются почвенными микроорганизмами. Было показано, что численность пропаноокисляющих бактерий более резко падает с глубиной, чем метаноокисляющих. Последние распространены довольно широко и встречаются не только в почвах газоносных районов, но и там, где идет энергичный распад органических веществ в анаэробных условиях с образованием газообразных углеводородов биологическим путем.

Микроорганизмы, использующие высшие гомологи метана, — обычные обитатели нефтеносных почв и служат индикаторами на нефтяные месторождения или на антропогенное загрязнение почв нефтью и продуктами ее переработки.

Использовать нефтяные углеводороды в качестве единственного источника углерода и энергии способны представители многих родов: р.р. *Pseudomonas*, *Methylococcus*, *Methylobacter*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Rhodococcus*, *Nocardia* и др.

Однако следует помнить, что количество аэробных нефтеокисляющих микроорганизмов не всегда позволяет однозначно выявить углеводородное загрязнение. В соответствии с современными представлениями, углеводородоокисляющие микроорганизмы распространены довольно широко и могут быть выделены из любой полевой, лесной и луговой почвы. Наличие в почве больших количеств нефтепродуктов не обязательно должно приводить к резкому увеличению численности нефтеокисляющих микроорганизмов, особенно если в почве ощущается недостаток источников азота или фосфора. Лимитирующим фактором может оказаться и нехватка молекулярного кислорода из-за нефтяного загрязнения.

В последнее время появились сведения о том, что в почвах, загрязненных нефтепродуктами, развиваются фотогетеротрофные пурпурные несерные бактерии. Это было установлено при исследовании почвенных проб с различной степенью загрязнения, отобранных на территории г. Екатеринбурга. В образцах этих почв были обнаружены аэробные нефтеокисляющие бактерии, однако статистически достоверных различий между численностью данной группы бактерий в загрязненных почвах и почвах, свободных от углеводородного загрязнения, не было установлено. В то же время пурпурные несерные бактерии были обнаружены только в почвах, загрязненных нефтепродуктами. Полученные данные позволили авторам сделать вывод о возможности использования пурпурных несерных бактерий для биоиндикации нефтяных загрязнений (Драчук С.В., 2004).

Нефтяное загрязнение можно диагностировать также по структурно-функциональным изменениям, происходящим в мик-

робных сообществах загрязненных почв, о чем будет сказано ниже (см. п. 3.3.3).

Загрязнение тяжелыми металлами

Тяжелые металлы являются одним из самых опасных загрязнителей, попадающих в почву. Соединения металлов вовлекаются в биологический круговорот веществ, надолго удерживаются в нем и, как установлено многочисленными исследованиями, оказывают влияние на деятельность микроорганизмов, нарушая микробную систему почв. Об этих нарушениях судят по изменению отдельных показателей микробной системы по сравнению с контролем.

При биоиндикации загрязнений почвы тяжелыми металлами необходимо учитывать, что решающим при токсичном действии тяжелых металлом является не их общее содержание в субстрате, а их концентрация в доступной форме.

Ранняя индикация загрязнения почв тяжелыми металлами возможна на уровне биохимических и физиологических реакций микробных клеток, например, по изменению активности некоторых ферментов. В частности, показано, что свинец оказывает сильное воздействие на активность таких ферментов, как пероксидаза, кислая фосфатаза, малатдегидрогеназа.

Р.А. Пшеничным с соавторами (1994) предложен и запатентован метод определения общей токсичности почв по степени ингибирования люциферазной ферментной системы у культуры *Photobacterium phosphoreum*. Авторами на основании лабораторных и полевых экспериментов установлено соответствие степени ингибирования люцифераз и токсичности почвенных образцов, обусловленной суммарным присутствием в них тяжелых металлов, а также некоторых органических загрязнителей. Метод показал высокую чувствительность: ингибирование люминесценции на 20-50% происходило уже при концентрациях свинца 0,0003, кадмия 0,01, меди 1,2, сурьмы 1 мг/л водной вытяжки из образца почвы, что меньше или равно 0,1 их ПДК. В соответствии с этим токсичность почв оценивалась как высокая при ингибировании свечения более 50%, малая – 21-50%, отсутствие токсичности – 0-20%.

В.С. Гузев с соавторами (1986) при изучении влияния тяжелых металлов на комплекс почвенных микроорганизмов серозема обыкновенного использовали такой показатель, как видовой состав актиномицетов рода *Streptomyces*, поскольку актиномицеты являются одной из наиболее чувствительных к загрязнению тяжелыми металлами групп микроорганизмов. Было показано изменение видового состава стрептомицетов, которое проявлялось в возрастании доли одних групп (*chromogenes*, *griseus*, *violaceus*) и снижении других (*albus*, *flavus*). При этом заметно увеличивалась доля пигментообразующих актиномицетов.

Этими же авторами были проведены исследования по влиянию тяжелых металлов на амилолитическое микробное сообщество ряда зональных почв. Были прослежены изменения состава и структуры сообщества в зависимости от концентрации того или иного металла. Так, например, показано, что при внесении кадмия состав и структура амилолитического микробного сообщества сохраняют стабильность до концентрации 7 мг/кг почвы. При увеличении концентрации кадмия состав сообщества остается примерно тем же, а структура его изменяется, в частности, снижается доля доминирующих микроорганизмов сообщества контрольной почвы – *Streptomyces sp.* 1-й группы *griseus*, возрастает доля *Monilia geophila*. При дальнейшем возрастании доз кадмия начинается смена состава сообщества. При 700 мг Cd/кг единственным доминантом остается микроскопический гриб *Mycogone perniciosa*, не обнаруживаемый в исходном сообществе. Этот микроорганизм доминирует до 3000 мг Cd/кг, после чего и его развитие начинает подавляться. При 70000 мг Cd/кг роста микроорганизмов не происходит.

На основании проведенных исследований авторы предложили модель влияния тяжелых металлов на микробную систему почв, которая оказалась универсальной и вышла за пределы действия только тяжелых металлов. Речь об этом пойдет ниже (см. п. 3.3.3).

3.3.3. Концептуальная модель влияния загрязнителя на микробную систему почв и ее использование при оценке состояния почв

Одно из характерных свойств почвы – саморегулирующийся гомеостаз (СГ), или буферность. СГ выражается в поддержании на определенном уровне основных признаков, характеризующих конкретную почву (биологическая активность, pH, Eh, концентрация органических и неорганических веществ и др. показатели). Чрезмерное загрязнение почв может привести к торможению или полному прекращению функционирования системы СГ, при этом образуются так называемые «техногенные» пустыни.

Согласно современным данным, главную роль в СГ почв играют почвенные микроорганизмы, которые способны осуществлять трансформацию разнообразных органических и неорганических веществ. В ответ на возрастание антропогенной нагрузки микробное сообщество претерпевает структурно-функциональные изменения. В соответствии с моделью, предложенной Гузовым В.С. с соавт. (1980), эти изменения выражаются в последовательной смене четырех адаптивных зон:

I. *Зона гомеостаза*. Характерна для низкого уровня нагрузки на почву. Состав (список видов сообщества) и структура (степень доминирования членов сообщества) микробных сообществ стабильны и практически неотличимы от контрольной почвы. Общая биомасса микроорганизмов сообщества может несколько возрасти в результате стимулирующего действия низких концентраций загрязнителей.

II. *Зона стресса* (средняя нагрузка). Возникают первые нарушения в микробных сообществах почвы. Состав сообщества практически не изменяется, но изменяется его структура, т.е. происходит перераспределение популяций микроорганизмов по степени доминирования. В ответ на характерные для этой адаптивной зоны концентрации загрязнителя происходит доминирующее развитие токсинообразующих микроорганизмов.

III. *Зона резистентности* (высокий уровень нагрузки). Резкое снижение видового разнообразия. Большинство видов гибнет, развитие получают устойчивые (резистентные) к данному загряз-

нительно популяции микроорганизмов. Происходит полное изменение доминирующих форм по сравнению с контрольной почвой.

IV. *Зона репрессии*. При дальнейшем увеличении нагрузки происходит полное подавление роста и развития микроорганизмов в почве.

Для наглядного представления изменений, происходящих в структуре микробного сообщества, используют синэкологические диаграммы. В качестве примера рассмотрим диаграмму, отражающую структурные изменения амилолитического* микробного сообщества дерново-подзолистой почвы в зависимости от концентрации в ней нефти (рис. 8).



Рис. 8. Влияние нефти на организацию амилолитического микробного сообщества дерново-подзолистой почвы (по Звягинцеву и др., 1989):

А – доминирующие виды; Б – часто встречающиеся виды; В – редко встречающиеся виды; 1 – *Mucor plumbeus*; 2 – *Oidiodendron griseum*; 3 – *Streptomyces griseus*; 4 – *Streptomyces albus*; 5 – *Penicillium paxilli*; 6 – *Rhodococcus sp.*; 7 – *Penicillium tardum*.

* *Амилолитическое микробное сообщество* – сообщество микроорганизмов, осуществляющих гидролитическое расщепление крахмала при помощи амилолитических экзоферментов (амилаз).

Как показано на синэкологической диаграмме, в структуре амилолитического микробного сообщества незагрязненной или слабо загрязненной почвы (зона гомеостаза) доминируют *Oidiodendron griseum*, *Streptomyces griseus*, часто встречается *Streptomyces albus*, из редко встречающихся видов присутствуют *Mucor plumbeus* и *Penicillium paxilli*. Данное сообщество устойчиво к внесению нефти до концентрации 0,7 мл/кг почвы, так как организация и видовой состав микроорганизмов сообщества до этой дозы практически не изменяются. При увеличении концентрации нефти выше 0,7 мл/кг в организации сообщества происходят значительные изменения. Заметно снижается доля доминирующих организмов сообщества контрольной почвы – *Oidiodendron griseum* и *Streptomyces griseus*. Изменяется пропорция некоторых до этого редко встречавшихся микроорганизмов, например, возрастает доля *Penicillium paxilli*, в то же время исчезает *Mucor plumbeus*. При дальнейшем увеличении концентрации нефти в составе сообщества появляются виды, не обнаруженные в сообществе незагрязненной почвы, в частности, *Rhodococcus sp.*, *Penicillium tardum*. Последний вид начинает наиболее активно развиваться при концентрации около 50 мл/кг почвы и становится доминирующим в интервале концентраций 50-200 мл/кг. Об этом виде пенициллов известно, что он совершенно не характерен для относительно северных дерново-подзолистых почв, а бывает приурочен к южным почвам. Биомасса *P. tardum* в данном интервале концентраций может быть значительна, но затем постепенно снижается и при концентрации нефти 300 мл/кг практически равна нулю. При последующем увеличении концентрации нефти происходит практически полное подавление роста и развития микроорганизмов. На основании результатов по изменению состава и организации амилолитического микробного сообщества выделено четыре качественно отличных интервала концентраций внесенной в почву нефти, которые соответствуют перечисленным выше адаптивным зонам:

- зона гомеостаза (0-0,7 мл/кг почвы), в которой все показатели микробной системы почвы стабильны и практически не отличаются от контроля;

- зона стресса (0,7 – 50,0 мл/кг), в которой возникают первые нарушения в микробном сообществе, так как происходит перераспределение популяций по степени доминирования;

- зона резистентности (50 – 300 мл/кг), в которой происходит резкое снижение видового разнообразия и смена состава сообщества; активно развиваются устойчивые (резистентные) к высоким концентрациям нефти популяции микроорганизмов. В этой зоне негативный эффект от загрязнения почвы нефтью приводит к полному изменению доминирующих форм в микробном сообществе, характерном для данной почвы;

- зона репрессии (концентрация нефти выше 300 мл/кг), в которой наблюдается практически полное подавление роста и развития микроорганизмов.

Данная модель достаточно универсальна и применима как к действию нефтяного, так и других видов загрязнений, что подтверждено данными по изучению влияния на микробное сообщество почв тяжелых металлов, минеральных удобрений и др. загрязнителей (Гузев В.С. и др., 1986; 1986 а).

Модель позволяет по-новому подойти к решению задач поиска видов-индикаторов, обоснованию критериев оценки степени нарушения нормального функционирования почв под влиянием внешних воздействий, а также сравнения негативного действия различных факторов.

В соответствии с этой моделью, поиск индикаторных форм микроорганизмов для ранней диагностики загрязнения бесперспективен, поскольку реакция микробной системы почв на первых стадиях нарушения (*зона стресса*) неспецифична. Изменения микробиологических показателей, которые можно здесь зафиксировать, являются следствием общего ухудшения экологической обстановки, вызванного опосредованным действием загрязнителя. При высоких уровнях загрязнения (*зона резистентности*) выявляются виды микроорганизмов, которые служат индикаторами на высокие дозы определенных веществ. Однако эти уровни загрязнения, как правило, уже не нуждаются в микробиологической диагностике, так как простое визуальное наблюдение присутствующих здесь организмов показывает катастрофические по сравнению с фоном изменения.

Учитывая вышесказанное, для оценки потенциальной устойчивости почв к загрязнителю предложено считать *величину зоны гомеостаза*: допустимой нормой нагрузки для микробного сообщества будет та, которая не выводит систему из зоны гомеостаза, где микробное сообщество является устойчивой и стабильной системой. Таким образом, экспериментально определяемое соотношение величин зоны гомеостаза в контрольной и загрязненной почве будет индикатором степени загрязнения почв.

Данная модель дает также возможность по величине зоны гомеостаза сравнивать действие различных веществ на микробную систему почв (табл. 17)

Таблица 17

Действие различных соединений на микробную систему дерново-подзолистей почвы (по В.С. Гузеву и др., 1986)

Действующий элемент	Форма соединения	Величина зоны гомеостаза, мг элемента/ кг почвы
Кадмий	ацетат	7
	оксид	20
Калий	хлорид	25
Азот	аммиачная селитра	30
Медь	ацетат	70
Свинец	ацетат	200
	оксид	300
Фосфор	простой суперфосфат	1000

Интересно, что такие биогенные элементы, как азот и калий, которые широко используются в качестве минеральных удобрений, вызывают бóльшие нарушения в микробной системе почв, чем некоторые тяжелые металлы, например, медь и свинец. Самое сильное действие на микробную систему почвы оказывают соединения кадмия, самое слабое – соединения фосфора.

Показатель величины зоны гомеостаза как критерий оценки степени повреждения микробной системы почв может быть использован для решения прикладных задач почвенной микробиологии, в частности, при разработке научного обоснования нормирования загрязнения почв.

3.3.4. Биологическое загрязнение почв

Биологическое загрязнение почв – составная часть органического загрязнения, обусловленного присутствием в почвах не свойственных им чужеродных микроорганизмов. Биологическое загрязнение происходит в результате попадания в почву бытовых и сельскохозяйственных отходов, а также за счет аэрозолей микробиологических производств. С отходами в почву могут попадать потенциально опасные микроорганизмы – патогенные и токсикогенные, способные вызывать кишечные инфекции и пищевые отравления у человека, эпидемические заболевания у животных, токсикозы растений. Для выявления биологического загрязнения почв проводят их санитарно-микробиологическое исследование, о чем будет сказано в специальной главе данного пособия (гл. 5, п. 5.5).

Вопросы и задания для контроля знаний

1. Какие микробиологические показатели можно использовать в качестве индикаторов почвенного плодородия, окультуренности и самоочищения почв?
2. Назовите количественные показатели почвенной микробиоты, которые используют для оценки состояния почв.
3. Каково индикаторное значение сапротрофной группировки микроорганизмов почв?
4. Какие эколого-трофические и функциональные группы микроорганизмов можно использовать в качестве показателей хода процесса самоочищения почв от азотсодержащего органического вещества?
5. Назовите микроорганизмы – индикаторы улучшения азотного режима почв.
6. Каким образом по микробиологическим показателям можно судить об экологических условиях, складывающихся в почве?
7. Дайте определение понятию «биологическая активность» почв.
8. В чем разница между потенциальной и актуальной биологической активностью почв?

9. Приведите примеры использования показателей потенциальной биологической активности почв для оценки ее состояния.

10. Что можно считать интегральным показателем актуальной биологической активности почв и как он изменяется при отдельных видах физических воздействий и химическом загрязнении почвы?

11. На чем основана принципиальная возможность использования микроорганизмов для определения содержания в почве элементов минерального питания растений?

12. Каковы достоинства микробиологических методов определения потребности почвы в макро- (Р, К, Са) и микроэлементах (Со)?

13. Какие виды физического воздействия на почвы вы можете назвать, и какие микробиологические показатели могут быть использованы для их диагностики?

14. Назовите микробиологические показатели, используемые для индикация нефтяного загрязнения почв.

15. Какие методы предложены для микробиологической индикации загрязнения почв тяжелыми металлами?

16. Дайте определение понятию «саморегулирующийся гомеостаз», или «буферность» почв.

17. Какие изменения претерпевает микробное сообщество почвы при увеличении антропогенной нагрузки?

18. Что такое «адаптивная зона» в концептуальной модели Гузева В.С. с соавт.?

19. В каких единицах измеряется величина адаптивной зоны?

20. Какой показатель предложено использовать в качестве индикатора степени загрязнения почв в модели Гузева В.С. с соавторами?

Глава 4

Микроорганизмы – индикаторы загрязнения воздушной среды

4.1. Общая характеристика микроорганизмов воздушной среды и их индикаторное значение

С экологической точки зрения воздух представляет собой среду, неблагоприятную для жизни микроорганизмов. Здесь на них оказывают воздействие такие губительные факторы, как солнечная радиация, колебания температуры, высыхание, действие фитонцидов, атмосферные осадки, а также отсутствие питательных веществ. Тем не менее, в воздухе, наряду с водой и почвой, постоянно обнаруживается значительное количество микроорганизмов, способных довольно долго сохраняться в нем.

Микроорганизмы в воздухе находятся в виде аэрозолей. *Бактериальный аэрозоль* – это коллоидная система, состоящая из воздуха, мельчайших капелек воды или частиц твердых веществ, в которые включены микроорганизмы. Водная и водно-солевая оболочка предохраняет их от высыхания. В зависимости от размера капелек, скорости их движения в воздухе различают следующие фазы бактериальных аэрозолей:

1) Капельная или крупнокапельная. Диаметр частиц аэрозоля более 0,1 мм. Микробная клетка окружена водно-солевой оболочкой, капли быстро оседают, длительность пребывания в воздухе – несколько секунд.

2) Капельно-ядерная или мелкокапельная. Диаметр частиц аэрозоля менее 0,1 мм. Эта фаза образуется из капельной фазы, когда капли теряют свою водно-солевую оболочку и переходят в фазу высохших бактериальных капель – ядрышек. В капельных

ядрышках частично сохраняется влага, что обеспечивает жизнеспособность микроорганизмов в них.

3) Фаза бактериальной пыли. Образуется из первых двух фаз при их высыхании и осаждении на частицах пыли. Частицы могут иметь разный размер: от 0,001 мм до 1 мм. В зависимости от размера они могут находиться во взвешенном состоянии или оседать, поднимаясь в воздушную среду при определенных условиях.

Фазы с размером частиц до 0,1 мм наиболее длительно находятся в воздухе и переносятся на значительные расстояния.

Качественный и количественный состав микроорганизмов воздуха очень динамичен и зависит от многих факторов: характера почвенного покрова; удаленности от поверхности почвы, населенных пунктов, промышленных и сельскохозяйственных предприятий; от общесанитарного состояния местности или населенного пункта, наличия зеленых насаждений; от сезонных, климатических, метеорологических факторов.

Качественный состав формируется, в основном, за счет микроорганизмов почвы или воды, над которыми расположены воздушные слои. В воздухе часто встречаются различные пигментообразующие кокки, спорообразующие палочки, актиномицеты, микроскопические грибы. Это, например, *Micrococcus roseus*, *M. flavus*, *Sarcina rosea*, *S. flava*, *Bacillus mycoides*, *Penicillium* и др. Эти микроорганизмы устойчивы к воздействию солнечных лучей благодаря содержанию каротиноидов или способности образовывать покоящиеся формы, что обеспечивает их способность длительно сохраняться в воздухе.

Кроме того, в воздушной среде могут присутствовать представители нормальной микрофлоры человека и животных (р.р. *Staphylococcus*, *Streptococcus*), а также патогенные микроорганизмы, которые выделяются больными людьми (или бактерионосителями^{*}) при разговоре, кашле, чихании, со слущивающимся

^{*} **Бактерионосительство** – одна из форм инфекционного процесса, при которой присутствие возбудителей заразных болезней человека и животных протекает без выраженных клинических проявлений болезни. По сути представляет собой своеобразное биологическое равновесие, при котором организм хозяина не в силах вывести возбудителя, а возбудитель не в состоянии преодолеть защитные силы организма и вызвать болезнь.

эпидермисом кожных покровов (например, *Mycobacterium tuberculosis*).

Количество микроорганизмов в 1 м³ воздуха варьирует от нескольких клеток до десятков тысяч. Так, например, воздух Арктики практически не содержит микроорганизмов (2-3 клетки в 20 м³), воздух над тайгой содержит лишь единицы микробных клеток в 1 м³. На высоте 2000 м над Москвой обнаружено 500-700 кл/м³, в то время как на высоте 500 м – до 2700 кл/м³. Наиболее загрязнен воздух вблизи земной поверхности, особенно в городах с интенсивным уличным движением, где содержание микроорганизмов достигает 10⁴ кл/м³, в то время как в зеленых зонах городов и их окрестностях – всего от 150 до 350 кл/м³.

Существенно отличается бактериальная обсемененность атмосферного воздуха и воздуха закрытых помещений. В закрытых помещениях воздух, как правило, всегда более загрязнен, чем атмосферный. Величина бактериального загрязнения воздуха закрытых помещений складывается из двух составляющих:

бактериальных аэрозолей атмосферного воздуха;

бактериальных аэрозолей, формирующихся в помещении.

Значение второй составляющей определяется санитарным состоянием помещения, характером его использования, состоянием вентиляции, численностью и поведением людей, клиническим состоянием респираторных органов и др.

Качественный и количественный состав микроорганизмов воздушной среды может служить индикатором состояния атмосферного воздуха и воздуха закрытых помещений. При этом микроорганизмы могут сигнализировать:

во-первых, об эпидемической (без)опасности воздушной среды;

во-вторых, о степени общего загрязнения воздуха;

в-третьих, о загрязнении воздушной среды выбросами химических предприятий.

Вопрос об использовании микроорганизмов в качестве индикаторов эпидемической (без)опасности воздушной среды будет рассмотрен в специальной главе данного пособия. Здесь же более подробно остановимся на микробиологических показателях, перечисленных в двух последних пунктах.

4.2. Микроорганизмы – индикаторы степени общего загрязнения воздушной среды

О степени общего загрязнения воздуха, как правило, судят по общему числу микроорганизмов в 1 м^3 воздуха. Этот показатель называется «общее микробное число» (ОМЧ) и выражается в кл/м³ или колониеобразующих единицах (КОЕ/м³).

Для закрытых помещений (бытовых, лечебных, предприятий пищевой промышленности, парикмахерских салонов) используют, кроме того, такие показатели, как количество стафилококков, гемолитических стрептококков, микроскопических грибов (дрожжевых и плесневых). Они служат индикаторами не только общего загрязнения воздуха закрытых помещений, но и их санитарного состояния.

В качестве примера в табл. 18 приведены критерии оценки степени общего загрязнения воздуха бытовых помещений.

Таблица 18

Критерии оценки загрязненности воздуха бытовых помещений по числу микроорганизмов в 1 м^3 (Перетрухина, 2005)

Оценка воздуха	Летний режим		Зимний режим	
	Всего микроорганизмов (ОМЧ)	Количество гемолитических стрептококков (<i>S. pyogenes</i>)	Всего микроорганизмов (ОМЧ)	Количество гемолитических стрептококков (<i>S. pyogenes</i>)
Чистый	1500	16	4500	36
Грязный	2500	36	7000	124

Для воздуха рабочей зоны, кроме ОМЧ, дополнительно определяют еще ряд показателей в соответствии со спецификой предприятия, которые также являются индикаторами качества воздушной среды. Это, в частности:

– число микроорганизмов-продуцентов в 1 м^3 воздуха для предприятий микробиологической промышленности;

- число бактерий группы кишечных палочек (БГКП) в 1 м³ воздуха для животноводческих комплексов и птицефабрик;
- другие показатели.

Так, например, в соответствии с гигиеническим нормативом ГН 2.1.6.1041-01 "Предельно-допустимые концентрации (ПДК) микроорганизмов-продуцентов, бактериальных препаратов и их компонентов в атмосферном воздухе населенных мест", численность клеток штамма *Bacillus subtilis* 65, используемого на предприятиях микробиологической промышленности в качестве продуцента фермента амилазы, не должна превышать 4х10⁴ кл/м³. В случае превышения указанного норматива воздушная среда рабочей зоны считается загрязненной, а ее качество – неудовлетворительным, что может отразиться на здоровье работающих на предприятии людей (возможность заболевания и развитие сенсibilизации^{*}).

4.3. Микроорганизмы – индикаторы загрязнения воздушной среды выбросами химических предприятий

Микроорганизмы в силу своей высокой биологической пластичности быстро реагируют на изменение качества среды обитания, что делает возможным оценку объективных связей в системе "техногенное загрязнение – свойства аэромикробиоты". С другой стороны, важная роль микроорганизмов в патологии человека позволяет связать регистрируемые изменения в свойствах аэромикробиоты с возникновением и развитием затяжных форм инфекций у людей, проживающих на загрязненных территориях. В связи с этим для характеристики загрязнения атмосферного воздуха в зоне влияния промышленных предприятий предложено использование двух подходов:

^{*} Сенсibilизация (лат. sensibilis- чувствительный) – повышение реактивной чувствительности организмов, их клеток и тканей.

- индикация загрязнения воздушной среды по изменению свойств населяющих ее микроорганизмов (первичный скрининг химических веществ);

- оценка уровня загрязнения атмосферного воздуха по уровню резидентного стафилококкового бактерионосительства в популяции людей.

4.3.1. Первичный скрининг химических веществ, поступающих в атмосферу

Данный подход заключается в анализе характеристик индикаторных микроорганизмов – обитателей воздушной среды.

Основанием для подобного подхода явилось установленное в эксперименте, а затем и в реальных экосистемах, стимулирующее воздействие ряда техногенных химических факторов на персис-^{*}тентные свойства микроорганизмов. При этом показано, что наиболее интенсивно реагируют на изменение качества атмосферного воздуха стафилококки. В качестве персистентных характеристик стафилококков, обитающих в воздушной среде, предложено использовать их *антилизационную* и *антиинтерфероновую* активности (А.с. СССР № 1449587; пол. реш. по заявке № 4439476 от 30.01.89).

Было установлено усиление персистентных свойств стафилококков, выделенных из воздушной среды с различной интенсивностью и специфичностью химического загрязнения. Так, в воздухе рабочей зоны буровых установок, характеризующимся повышенным содержанием углеводов и окиси углерода, выявлено возрастание доли стафилококков, проявляющих антилизационную активность, в 1,9 – 2,2 раза по сравнению с аналогичным показателем в фоновой ("чистой") зоне. У стафилококков, изолированных из атмосферного воздуха, загрязненного продуктами переработки природного сероводородсодержащего газа, наряду с повышением антилизационной активности, отмечен рост антиинтерфероновой активности в 2,3 – 2,9 раза в сравнении с распространением данного признака в фоновой зоне. Таким образом, обнаружение в воздушной среде стафилококков с изме-

* persistent (англ.) – стойкий, живучий

ненными персистентными характеристиками позволяет установить наличие в ней указанных загрязняющих химических веществ.

Проведение первичного скрининга химических веществ, поступающих в атмосферу, по влиянию на персистентные характеристики стафилококков позволяет, кроме того, установить возможную опасность химических агентов как факторов, определяющих формирование затяжных форм инфекций у лиц, занятых на данном химическом производстве. Так, выявление у природного сероводородсодержащего газа способности в 65 – 88% случаев повышать антилизотимную активность стафилококков позволило оценить причины роста уровня бактерионосительства и заболеваемости верхних дыхательных путей у работников газодобывающей и газоперерабатывающей промышленности. Своевременная индикация персистогенной способности химических соединений создает возможность предотвращения их неблагоприятного влияния на здоровье человека.

4.3.2. Оценка уровня загрязнения атмосферного воздуха по уровню резидентного стафилококкового бактерионосительства в популяции людей

Данный подход к биоиндикации заключается в анализе характеристик так называемых "организмов-накопителей", т.е. людей, постоянно проживающих в загрязненной зоне. В качестве анализируемой характеристики предложено использовать частоту формирования в человеческой популяции состояния резидентного стафилококкового бактерионосительства.

Основным местом локализации стафилококков в организме человека служат слизистые оболочки верхних дыхательных путей, а также кожные покровы. Однако состояние аутомикробиоты кожи не является специфическим отражением загрязнения именно воздушной среды, а отражает скорее общий уровень резистентности организма и может меняться в зависимости от многих гигиенических воздействий. Слизистая же оболочка носоглотки не подвергается никакому другому действию, кроме действия вдыхаемого воздуха, что позволяет говорить о специфичности

воздействия на организм загрязнителей именно воздушной среды. Наибольшую роль в патологии человека играет обитатель на слизистой носоглотки золотистый стафилококк – *Staphylococcus aureus*. Установлено, что примерно 20% людей практически не имеют золотистого стафилококка, около 60% являются транзиторными носителями и быстро от него освобождаются, а остальные 20% человеческой популяции являются резидентными бактерионосителями, т.е. лицами, у которых золотистый стафилококк длительно пребывает на слизистой оболочке верхних дыхательных путей.

Можно выделить две причины, которые обуславливают формирование у людей состояния резидентного бактерионосительства золотистого стафилококка.

Во-первых, это воздействие техногенных загрязнителей на свойства микроорганизмов. Золотистый стафилококк обладает большой устойчивостью к различным химическим и физическим факторам, кроме того, его персистентные характеристики могут усиливаться под воздействием присутствующих в атмосферном воздухе химических загрязнителей, выбрасываемых предприятиями нефтегазохимической промышленности, о чем уже говорилось выше (см. п. 4.3.1). Персистентные характеристики золотистого стафилококка направлены на инактивацию факторов естественной резистентности организма человека и, таким образом, способствуют формированию состояния резидентного бактерионосительства.

Во-вторых, это воздействие техногенных загрязнителей на защитные механизмы "организма-накопителя". Атмосферные загрязнения первично поражают местные механизмы защиты носоглотки, снижая их активность, что ведет к колонизации носоглотки потенциально патогенными микроорганизмами, в первую очередь золотистым стафилококком. При этом наиболее опасным является *длительное* пребывание стафилококка на слизистой оболочке (резидентное бактерионосительство), поскольку оно является причиной роста уровня заболеваемости верхних дыхательных путей и способствует хронизации инфекционного процесса у людей, постоянно проживающих в загрязненной зоне или занятых на данном химическом производстве. Кроме того, суще-

ствуется большая вероятность распространения стафилококка по всему организму с формированием вторичных очагов поражения.

Учитывая все вышеизложенное, специалистами Оренбургского государственного медицинского института и Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения АН СССР был предложен и запатентован (А.с. СССР № 1449587; пол. реш. по заявке № 4439476 от 30.01.89) метод индикации загрязнения атмосферного воздуха сероводородом и диоксидом серы по уровню резидентного бактерионосительства золотистого стафилококка у людей, постоянно проживающих в загрязненной зоне (районы нефтегазоконденсатных месторождений, нефте- и газоперерабатывающих заводов и др.). При этом наиболее целесообразно изучение частоты резидентного стафилококкового бактерионосительства в "критической популяции" среди детей 9 – 12 лет, которая характеризуется наиболее выраженными изменениями аутомикробиоты в условиях воздействия атмосферных загрязнителей.

Сущность способа заключается в отборе проб аутомикробиоты со слизистой носоглотки у указанного контингента, постоянно проживающего в обследуемой и фоновой зонах, и проведение бактериологического анализа с выявлением среди детей состояния резидентного бактерионосительства золотистого стафилококка (РВ). Для этого в обследуемой и фоновой зонах обследуют не менее 100 детей двукратно с интервалом 1,5-2 месяца. Лиц, у которых по результатам обоих анализов выделены идентичные культуры золотистого стафилококка, причисляют к бактерионосителям резидентного типа. Далее соотносят величины частоты бактерионосительства в обследуемой ($PВ_x$) и фоновой ($PВ_k$) зонах и при значениях коэффициента $PВ_x / PВ_k$ более 3 воздушную среду считают сильно загрязненной сероводородом и диоксидом серы. При этом величину $PВ_x / PВ_k$, равную 3, рассматривают как пороговую, превышение которой свидетельствует об уровне загрязнения более 10 ПДК. Пороговое значение коэффициента $PВ_x / PВ_k$ было установлено путем сопоставления результатов бактериологических анализов с данными химического анализа атмосферного воздуха на содержание сероводорода и диоксида серы. При регистрации величины $PВ_x / PВ_k$ менее 3, загрязнение

воздушной среды сероводородом и диоксидом серы находится в пределах более 1, но менее 10 ПДК, т.е. выражено в умеренной степени.

Использование предложенных подходов создает основу для проведения экологической диагностики состояния воздушной среды в районах развития нефтегазохимической промышленности, что открывает возможность своевременного и целенаправленного осуществления мероприятий по устранению или предотвращению неблагоприятного влияния техногенных химических факторов на здоровье человека.

Так, например, использование данного способа биоиндикации загрязнения атмосферного воздуха позволило провести экологическое картирование района Астраханского газоперерабатывающего завода (АГПЗ). В шести населенных пунктах, находящихся на разном расстоянии от завода, загрязнение атмосферного воздуха было оценено как высокое, в связи с чем были разработаны рекомендации по корректировке границ санитарно-защитной зоны АГПЗ.

Вопросы и задания для самоконтроля

1. В чем состоит специфика воздушной среды как среды обитания микроорганизмов?
2. Какие особенности имеют микроорганизмы, населяющие воздушную среду?
3. Назовите причины, влияющие на качественный и количественный состав микроорганизмов воздушной среды.
4. Какие микробиологические показатели служат индикаторами для оценки степени общего загрязнения воздушной среды (рассмотрите отдельно атмосферный воздух, воздух рабочей зоны, воздух закрытых помещений).
5. Какие вам известны микробиологические методы индикации загрязнения воздушной среды выбросами химических предприятий?
6. Объясните понятие «первичный скрининг химических веществ».
7. Какие микроорганизмы предложено использовать для первичного скрининга химических веществ в атмосфере?

8. Какие свойства стафилококков воздушной среды предложено использовать для первичного скрининга химических веществ в атмосфере?

9. Как называются такие свойства и почему?

10. Каким образом загрязнение атмосферного воздуха влияет на персистентные характеристики стафилококков?

11. Назовите основной биотоп золотистого стафилококка.

12. Каким образом изменение персистентных характеристик стафилококков влияет на длительность их пребывания на слизистой оболочке носоглотки человека?

13. Каких людей относят к резидентным бактерионосителям?

14. Назовите причины, способствующие формированию резидентного носительства золотистого стафилококка.

15. Объясните значение коэффициентов $PВ_x$ и $PВ_k$.

16. Каким образом можно использовать данные коэффициенты для оценки качества воздушной среды?

17. Какой контингент людей обследуется при проведении биоиндикации загрязнения атмосферного воздуха данным способом? Почему?

18. Объясните, почему способ биоиндикации загрязнения воздушной среды по уровню резидентного носительства золотистого стафилококка в популяции людей является специфичным в отношении именно воздушной среды?

19. При проведении биоиндикации загрязнения атмосферного воздуха в районе нефтегазового месторождения в поселке обследуемой зоны было выявлено 28% резидентных бактерионосителей золотистого стафилококка. В фоновой зоне только у 7% детей было установлено резидентное бактерионосительство. Используя известный вам метод, дайте заключение о состоянии воздушной среды обследуемого поселка.

20. При биоиндикации атмосферного воздуха в районе Н-ского газоперерабатывающего завода было обследовано пять населенных пунктов, расположенных на различном расстоянии от предприятия. Получены следующие данные:

Населенный пункт	Удаленность от предприятия, км	Процент бактерионосителей
1 (фоновая зона)	20	9,8
2	15	19,6
3	10	24,5
4	6	37,3
5	3	40,0

На каком расстоянии, по вашему мнению, должна проходить граница санитарно-защитной зоны? Ответ обоснуйте (воспользуйтесь расчетным коэффициентом $PВ_x / PВ_k$).

21. Используя материал главы, приведите пример прямой и косвенной индикации состояния воздушной среды по микробиологическим показателям.

Глава 5

Микроорганизмы – индикаторы санитарного состояния окружающей среды

Санитарно-микробиологическое исследование объектов окружающей среды призвано решить вопрос о наличии или отсутствии в них микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней человека, т.е. оценить окружающую среду с точки зрения эпидемической (без)опасности. Однако прямая индикация патогенных микроорганизмов сопряжена с рядом трудностей. Это связано, прежде всего, с низкой концентрацией данных микроорганизмов в окружающей среде, т.к. они, как правило, не могут размножаться в воздухе, воде и почве. Поэтому прямой поиск патогенных микроорганизмов используется лишь в тех случаях, когда имеются классические методы обнаружения малых количеств патогенных микроорганизмов и их токсинов, например, при индикации возбудителей чумы (*Yersinia pestis*), холеры (*Vibrio cholerae*), при обнаружении токсинов ботулизма и др. Поэтому, как правило, оценку санитарного состояния различных объектов окружающей среды проводят по косвенным показателям с использованием группы так называемых санитарно-показательных микроорганизмов. Ниже приведем общую характеристику данной группы, а также краткую характеристику отдельных ее представителей, наиболее часто используемых в целях биоиндикации.

5.1. Общая характеристика санитарно-показательных микроорганизмов

К *санитарно-показательным микроорганизмам* относят представителей облигатной микробиоты человека и животных, обитающих в кишечнике или респираторном тракте.

Кишечник и респираторный тракт – это сообщающиеся с внешним миром полости организма человека и животных. Они обильно заселены микроорганизмами – представителями нормальной микробиоты*, которая в норме довольно постоянна по качественному составу. Для многих из них полость кишечника или респираторный тракт являются единственным природным биотопом, хотя при некоторых условиях они могут определенное время сохранять жизнеспособность вне организма, а в ряде случаев (например, в пищевых продуктах) даже размножаться. С экскретами организма обитатели кишечника или респираторного тракта попадают во внешнюю среду, поэтому их обнаружение вне организма свидетельствует:

во-первых, о загрязнении различных объектов соответствующими выделениями человека или животных;

во-вторых, косвенно указывает на возможное присутствие патогенных микробов, выделяющихся из организма теми же путями.

Например:

– обнаружение в окружающей среде нормальных обитателей кишечника является индикатором ее фекального загрязнения и возможного присутствия возбудителей кишечных инфекций (брюшного тифа, дизентерии и др.);

– представители нормальной микробиоты респираторного тракта во внешней среде указывают на ее воздушно-капельное загрязнение и возможность присутствия возбудителей инфекционных заболеваний, передающихся воздушно-капельным и воздушно-пылевым путем (дифтерии, скарлатины, туберкулеза и др.).

* В литературе для обозначения микроорганизмов – обитателей организма человека и животных до сих пор встречается широко применявшийся ранее термин "микрофлора".

В таких случаях представители нормальной микробиоты служат индикаторами санитарного неблагополучия, потенциальной опасности исследуемых объектов, поэтому они и получили название **санитарно-показательные**.

Количественный учет санитарно-показательных микроорганизмов во внешней среде позволяет установить степень ее загрязнения, что в свою очередь, определяет степень эпидемической опасности исследуемых объектов: *чем больше в них обнаруживается санитарно-показательных микроорганизмов, тем выше вероятность наличия здесь патогенных микроорганизмов, выделяющихся теми же путями.*

При количественном учете определяют титр или индекс санитарно-показательных микроорганизмов, или их численность в определенных объемах (массах) исследуемых объектов, которые определены санитарно-гигиеническими нормативами.

Титр – это наименьшее количество исследуемого материала (в миллилитрах или граммах), в котором обнаружена хотя бы одна жизнеспособная клетка искомого микроорганизма.

Например:

"титр нитрификаторов" – наименьшее количество исследуемого материала (воды, почвы и др.) в котором обнаружена хотя бы одна жизнеспособная клетка нитрифицирующих бактерий.

Индекс – количество клеток искомого микроорганизма, содержащихся в определенном объеме (массе) исследуемого объекта: для воды – в 1000 мл, для почвы – в 1 г.

Например, "коли-индекс" – число бактерий группы кишечных палочек в 1000 мл воды или 1 грамме почвы.

Индекс – величина, обратная титру, поэтому пересчет титра в индекс и обратно можно производить по формулам:

для воды

$$\text{титр} = \frac{1000}{\text{индекс}} \qquad \text{индекс} = \frac{1000}{\text{титр}}$$

для почвы

$$\text{титр} = \frac{1}{\text{индекс}} \qquad \text{индекс} = \frac{1}{\text{титр}}$$

Вновь вводимые санитарные правила и нормативы, в частности, регламентирующие качество воды, устанавливают допустимую численность санитарно-показательных микроорганизмов в определенном объеме воды, как правило, в 100 или 20 мл (табл. 20, 21).

Все микроорганизмы, относящиеся к категории санитарно-показательных, можно разделить на три группы: индикаторы фекального загрязнения, воздушно-капельного загрязнения и загрязнения объектов внешней среды разлагающимися органическими субстратами (рис. 9).

Представители первых двух групп являются обитателями естественных полостей организма человека и теплокровных животных.

I группа – представители нормальной микробиоты кишечника, поэтому они указывают на фекальное загрязнение объектов окружающей среды и свидетельствуют тем самым о возможном присутствии в этих объектах возбудителей кишечных инфекций и токсикоинфекций.

II группа – представители нормальной микробиоты верхних отделов дыхательных путей, поэтому они являются показателями биологической контаминации воздуха и других объектов окружающей среды обитателями респираторного тракта человека и теплокровных животных. В этом случае говорят о воздушно-капельном загрязнении. Служат для косвенной индикации в объектах внешней среды возбудителей инфекций, передающихся воздушно-капельным и воздушно-пылевым путем.

Кроме этого, в настоящее время выделяют еще III группу, в которой в качестве представителей используются микроорганизмы, обитающие в естественных условиях вне организма человека или животных. Необходимость выделения этой группы обусловлена возрастающим загрязнением окружающей среды различными органическими веществами и необходимостью контроля процессов естественного самоочищения от органического загрязнения.



Рис. 9. Группы санитарно-показательных микроорганизмов

5.2. Краткая характеристика отдельных представителей санитарно-показательных микроорганизмов

5.2.1. Бактерии группы кишечных палочек

Под общим названием "Бактерии группы кишечных палочек" (БГКП) объединяют бактерии семейства *Enterobacteriaceae* (энтеробактерии), которое в соответствии с Определителем бактерий Берджи (1997) входит в Группу 5 "Факультативно анаэробные грамотрицательные палочки".

Согласно ГОСТ 18963-73 "Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа" к **БГКП** относят:

*грамотрицательные**, не образующие спор палочки, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа при температуре $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ в течение 24-48 часов или сбраживающие глюкозу с образованием кислоты и газа при температуре $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ в течение 24 часов и не обладающие оксидазной активностью**.

Для обнаружения БГКП сначала делают посев исследуемого материала на дифференциально-диагностическую среду Эндо (в качестве источника углерода она содержит лактозу). Все бактерии, дающие рост на среде Эндо при температуре $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ в течение 24 часов, получили название *эндобактерий*.

Эндобактерии представлены, в основном, грамотрицательными микроорганизмами, но на среде Эндо могут вырастать и колонии, содержащие грамположительные бактерии. Поэтому из эндобактерий выделяют *энтеробактерии* – грамотрицательные эндобактерии, не образующие спор и являющиеся оксидазоотрицательными. Для этого исследуют те колонии, выросшие на среде Эндо, которые характерны для кишечных палочек: темно-красные с металлическим блеском или без него, розовые, прозрачные. По международной номенклатуре это *колиформные бактерии*. Их еще иначе называют лактозоположительные кишечные палочки (ЛКП).

Из энтеробактерий в свою очередь выделяют *БГКП* – бактерии, обладающие дополнительным свойством сбраживать глюкозу с образованием кислоты и газа при температуре $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ в течение 24 часов.

В настоящее время применяемый в России показатель БГКП приведен в соответствие с международной номенклатурой и практически идентичен показателю "колиформные бактерии".

* *Окраска по Граму* – метод окраски бактериальных клеток, который является важным диагностическим признаком. Способность бактерий окрашиваться по Граму связывают с их молекулярной организацией и химическим составом клеточной стенки. По способности окрашиваться красителями триметилфенолового ряда всех бактерий делят на две группы: грамположительные и грамотрицательные.

** *Оксидазная активность* – наличие в клетках ферментов – терминальных оксидаз (аэробных дегидрогеназ), которые передают водород от субстрата непосредственно кислороду.

Среди колиформных бактерий различают общие колиформные бактерии и термотолерантные колиформные бактерии [МУК 4.2.1018-01].

Общие колиформные бактерии (ОКБ) – грамотрицательные, оксидазоотрицательные, не образующие спор палочки, способные расти на дифференциальных лактозных средах, ферментирующие лактозу до кислоты, альдегида и газа при температуре 37 ± 1 °C в течение 24-48 ч.

Термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ) – входят в число ОКБ, обладают всеми их признаками и, кроме того, способны ферментировать лактозу до кислоты, альдегида и газа при температуре $44 \pm 0,5$ °C в течение 24 ч. Их еще иначе называют фекальными кишечными палочками (ФКП). К этой группе относится *Escherichia coli* – типичный обитатель кишечника человека и теплокровных животных. Экспериментально установлено, что при попадании во внешнюю среду *Escherichia coli* через определенный промежуток времени способна значительно изменять свои ферментативные свойства и приобретать признаки р.р. *Citrobacter* и *Enterobacter*. В связи с этим ее присутствие в объектах окружающей среды служит показателем свежего фекального загрязнения.

ОКБ – интегральный показатель степени фекального загрязнения, который включает ТКБ, *E.coli*, и поэтому обладает индикаторной надежностью в отношении возбудителей бактериальных кишечных инфекций. ОКБ – наиболее чувствительный показатель при выявлении источников фекального загрязнения, в том числе небольших.

ТКБ определяют одновременно в одном и том же посеве с ОКБ для подтверждения фекального происхождения загрязнения. При обнаружении только ОКБ (или БГКП) и отсутствии ТКБ нельзя однозначно делать вывод о фекальном загрязнении, т.к. представители группы кишечных палочек распространены также в почве и на растениях. Их присутствие, например, в питьевой воде, может расцениваться как свидетельство:

- недостаточной очистки исходной воды;
- вторичного загрязнения воды после очистки в распределительной сети;

- попадания почвенных вод;
- как вероятность фекального загрязнения.

Тот или иной показатель (БГКП, ОКБ или ТКБ) определяют в зависимости от задач исследования.

5.2.2. Энтерококки (фекальные стрептококки)

Энтерококки являются представителями нормальной микрофлоры кишечника человека и теплокровных животных и выделяются в окружающую среду в довольно значительных количествах ($10^8 - 10^9$ кл/ г фекалий).

В соответствии с Определителем Берджи их относят к группе 17 "Грамположительные кокки", р. *Enterococcus*. Это полиморфные, круглые, чаще слегка вытянутые с заостренными концами кокки, располагающиеся попарно или в коротких цепочках. Санитарно-показательное значение имеют два вида: *Enterococcus faecalis* (преобладает в кишечнике человека) и *Enterococcus faecium* (преобладает в кишечнике животных). Ранее их относили к видам *Streptococcus faecalis* и *Streptococcus faecium*. По морфологии энтерококки представляют собой диплококки ланцетовидной, овальной или круглой формы, иногда располагающиеся цепочками, грамположительны, спор не образуют.

Энтерококки принято считать показателями свежего фекального загрязнения, т.к. они быстро отмирают в окружающей среде (быстрее, чем *E. coli*) и не способны в ней размножаться. Однако для выделения энтерококков из окружающей среды требуется больше времени, чем при индикации БГКП, и более сложные в приготовлении питательные среды. Это препятствует широкому их использованию как показателей фекального загрязнения, хотя в стандартах некоторых стран (Россия, Англия, США, Франция и др.) энтерококки признаны дополнительным показателем фекального загрязнения воды.

5.2.3. Сульфитредуцирующие клостридии

Клостридии, так же как энтерококки и кишечные палочки, являются обитателями кишечника человека и некоторых теплокровных животных и выделяются в окружающую среду в количестве от 10^6 до 10^9 кл/ г фекалий.

В соответствии с Определителем Берджи их относят к группе 18 "Грамположительные палочки и кокки, образующие эндоспоры", роду *Clostridium*. По морфологии – это довольно крупные (5-8 мкм в длину и 1-2 мкм в ширину) неподвижные полиморфные грамположительные спорообразующие палочки. В организме человека и животных способны образовывать капсулы. Споры термоустойчивы, могут выдерживать кипячение до 2 ч.

Санитарно-показательное значение имеют, главным образом, *C. perfringens* и *C. sporogenes*. Они способны редуцировать (восстанавливать) сульфит при росте в сульфитных средах, в связи с чем получили название – сульфитредуцирующие. В соответствии с МУК 4.2.1018-01 "Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды" к **сульфитредуцирующим клостридиям** относят *спорообразующие анаэробные палочковидные микроорганизмы, редуцирующие сульфит натрия на железо-сульфитном агаре при температуре 44±1 °C в течение 16-18 ч.*

Сроки выживания этих микробов во внешней среде могут быть довольно длительны, поэтому обнаружение спор сульфитредуцирующих клостридий может свидетельствовать как о свежем (при одновременном наличии ТКБ), так и о давнем фекальном загрязнении. Этот показатель очень важен при исследовании питьевой воды, почвы и пищевых продуктов, т.к. он косвенно указывает на возможное присутствие в исследуемых объектах патогенных клостридий, таких как *C. botulinum* – возбудитель ботулизма, *C. tetani* – возбудитель столбняка. Большим преимуществом санитарно-показательных клостридий перед кишечными палочками является быстрая и технически несложная индикация их в окружающей среде.

5.2.4. Бактерии группы протей

К бактериям группы протей относят представителей семейства *Enterobacteriaceae* рода *Proteus*. В соответствии с Определителем Берджи это семейство входит в Группу 5 "Факультативно анаэробные грамотрицательные палочки". Морфологически это грамотрицательные подвижные палочки с перитрихальными жгутиками, 1-3 мкм в длину и 0,4-0,8 мкм в ширину с присущим про-

явлением полиморфизма* в зависимости от условий, спор и капсул не образуют.

Характерной культуральной особенностью бактерий этого рода является способность к роению: на твердых питательных средах они образуют вуалеобразный рост, постепенно закрывая всю поверхность среды.

Микроорганизмы р. *Proteus* относятся к факультативным обитателям толстого кишечника человека и обнаруживаются лишь у 5 – 10% здоровых людей, поэтому самостоятельного значения как показатель фекального загрязнения не имеют. Представители этого рода достаточно широко распространены в природе, они обитают в субстратах, в которых протекают аэробные процессы гниения. Благодаря работам Г.П. Калины (1969) было установлено, что существуют выраженные экологические различия между видами *P. mirabilis* и *P. vulgaris*. *P. mirabilis* чаще содержится в хозяйственно-бытовых сточных водах, а *P. vulgaris* – в сточных водах пищевой промышленности, богатых органическими веществами. В связи с этим *P. mirabilis* может служить дополнительным показателем фекального загрязнения, а *P. vulgaris* – показателем загрязнения разлагающимися пищевыми органическими субстратами (рис. 9).

Обнаружение большого количества бактерий вида *P. vulgaris* в объектах внешней среды свидетельствует о развитии в них гнилостных процессов. Определение протей проводят для оценки санитарного состояния водоемов в местах сброса сточных вод пищевой промышленности, санитарного состояния почв при загрязнении их органическими отходами, а также при санитарно-микробиологическом исследовании предметов обихода (особенно столовых приборов). Чаще всего выявление и учет бактерий группы протей проводят по эпидемическим показаниям, при этом видовое определение не проводят.

* Способность бактерий изменять свою форму и послужила основанием для названия рода. Мифический бог Протей – бог, способный менять свой облик.

5.2.5. Стафилококки

Стафилококки относятся к факультативным, но очень часто обнаруживаемым обитателям организма человека и некоторых теплокровных животных. В соответствии с Определителем Берджи их относят к Группе 17 "Грамположительные кокки", роду *Staphylococcus*.

По морфологии стафилококки представляют собой грамположительные, неподвижные клетки сферической формы, диаметром 0,5-1,5 мкм, одиночные, в парах и в группах неправильной формы (греч. *staphylos* – гроздь). Основным местом локализации стафилококков служат слизистые оболочки верхних дыхательных путей, а также кожные покровы. В окружающую среду – воздух, на предметы обихода – стафилококки попадают со слюной и мокротой при разговоре, кашле, чихании, а также с кожи, из мест воспалений и раневых поверхностей. При высыхании выделений из носоглотки находившиеся в них стафилококки могут распространяться воздушно-пылевым путем. Загрязнение воды водоемов стафилококками происходит при купании людей.

В организме человека доминируют три вида: коагулазоположительный* *S. aureus* и коагулазонегативные *S. epidermidis* и *S. saprophyticus*. Наибольшую роль в патологии человека играет ***Staphylococcus aureus*** – золотистый стафилококк, он же является санитарно-показательным. Во внешней среде *S. aureus* не размножается (за исключением пищевых продуктов), однако обладает большой устойчивостью к различным химическим и физическим факторам. Сроки выживания стафилококков во внешней среде могут достигать до 2-3 месяцев в зависимости от температуры, влажности, воздействия солнечного света и др. Поэтому обнаружение в окружающей среде коагулазоположительных стафилококков следует расценивать как показатель воздушно-капельного загрязнения.

Стафилококков предложено применять в качестве санитарно-показательных микроорганизмов для воздуха закрытых помещений, особенно хирургических, детских стационаров, в отделениях

* **Коагулазоположительные** – образуют фермент коагулазу, вызывающую свертывание плазмы крови.

реанимации, родильных отделениях. Увеличение количества санитарно-показательных стафилококков в воздухе, на предметах обихода перечисленных лечебных учреждений свидетельствует о санитарном неблагополучии, а в ряде случаев и об эпидемической опасности (внутрибольничные инфекции).

Стафилококки также являются важным показателем загрязненности воды в зонах рекреации водоемов, плавательных бассейнов.

Преимущество стафилококков как санитарно-показательных микроорганизмов по сравнению со стрептококками заключается в более простой и быстрой индикации стафилококков в окружающей среде, их неприхотливости к питательным средам, высокой резистентности.

5.2.6. Стрептококки

Стрептококки являются представителями нормальной микрофлоры верхних дыхательных путей человека и теплокровных животных. Они постоянно и в большом количестве (до 10^7 кл/мл слюны) присутствуют в полости рта, носу и носоглотке как больных, так и здоровых людей, и поэтому обильно выделяются в окружающую среду при разговоре, кашле, чихании и т.п.

В соответствии с Определителем Берджи их относят к Группе 17 "Грамположительные кокки", роду *Streptococcus*. Морфологически стрептококки представляют собой круглые или слегка овальные кокки диаметром 0,5 – 2 мкм, грамположительные, спор не образуют, неподвижные, располагаются цепочками (греч. *streptos* – скрученный в виде цепи).

В зависимости от способности разрушать эритроциты стрептококков делят на 3 группы:

– α (альфа)-стрептококки, или α -гемолитические, зеленящие – не полностью разрушают эритроциты, образуют зеленоватые зоны вокруг колоний при росте на кровяном агаре. Строго говоря, это не гемолиз, а трансформация гемоглобина в метгемоглобин. К этой группе относятся, например, стрептококки ротовой полости *S. mutans* (главный возбудитель кариеса), *S. sanguis* и др.

– β (бета)-стрептококки, или β -гемолитические – вызывают лизис эритроцитов и образуют зону гемолиза вокруг колоний на кровяном агаре. Наибольшее значение в патологии человека имеет *S. pyogenes*.

– γ (гамма)-стрептококки (негемолитические) – не изменяют кровяной агар. Это сапротрофы, они широко распространены в окружающей среде, например, *S. lactis*, *S. cremoris* и др. В настоящее время в соответствии с Определителем Берджи они отнесены к роду *Lactococcus*.

Следует отметить, что классификация стрептококков по характеру гемолиза несовершенна, т.к. этот признак недостаточно постоянен и зависит от условий культивирования.

Альфа-стрептококки присутствуют в слюне и слизи из верхних дыхательных путей почти у 100% здоровых людей и обильно выделяются во внешнюю среду при разговоре, кашле, чихании, загрязняя воздух и другие объекты окружающей среды. Бета-стрептококки не относятся к облигатным обитателям дыхательных путей, выделяются только у 25-76% здоровых людей и всегда воспринимаются как потенциальная угроза для своего хозяина и его окружения. Исходя из этого, санитарно-показательными считают суммарно *α - и β -гемолитические стрептококки*, они свидетельствуют о воздушно-капельном загрязнении окружающей среды. Негемолитические γ -стрептококки, не играющие роли в патологии человека, не включены в число санитарно-показательных.

Стрептококки менее устойчивы в окружающей среде, чем стафилококки. Наименее устойчивы α -гемолитические стрептококки, поэтому их считают показателем свежего загрязнения.

В целом, индикация и идентификация стрептококков более сложна и трудоемка по сравнению со стафилококками, что обуславливает преимущество последних как санитарно-показательных микроорганизмов.

5.2.7. Термофильные бактерии

К термофилам относят разнородную группу бактерий (грам-положительные кокки, бациллы, спириллы, актиномицеты и др.), способных активно размножаться при высоких температурах.

Они широко распространены в природе: обитают в термальных источниках, в верхних слоях почв пустынь, тропиков, окультуренных почвах средней полосы, в больших количествах присутствуют в навозе, компосте и других согревающихся при созревании органических удобрениях, в небольших количествах обнаруживаются в выделениях из кишечника человека и теплокровных животных.

Учитывая вышесказанное, присутствие термофильных микроорганизмов предложено считать индикатором загрязнения окружающей среды *разлагающимися органическими субстратами*.

Загрязнение почвы и водоемов термофилами происходит при попадании в них навоза и компоста, содержащих разлагающиеся органические остатки. В незагрязненной почве, в целинных почвах термофилы не обнаруживаются или количество их ничтожно (табл. 15).

Количество термофилов в сочетании с другими показателями служит также для характеристики отдельных этапов процесса минерализации органических веществ, т.е. давности загрязнения (табл. 19). Так, сразу после попадания органических субстратов (навоз, компост) в объектах окружающей среды можно обнаружить большое количество БГКП (ОКБ), количество термофилов при этом невелико или умеренно, мало энтерококков и нитрификаторов, отсутствуют ТКБ. Давнее загрязнение характеризуется высокой численностью термофилов и нитрификаторов и незначительным количеством или полным отсутствием БГКП (ОКБ) и энтерококков.

5.2.8. Нитрифицирующие бактерии

Нитрифицирующие бактерии участвуют в минерализации азотсодержащих органических соединений в почве и водоемах. Общая характеристика процессов, осуществляемых данной группой бактерий, дана выше (см. гл. 2, п. 2.3.2; гл. 3, п. 3.2.1). В практике санитарно-микробиологических исследований обычно определяют титр нитрификаторов. В сочетании с другими показателями он дает представление о ходе отдельных этапов процесса самоочищения природных сред от азотсодержащих органических веществ (табл. 19).

Соотношение различных групп санитарно-показательных микроорганизмов в зависимости от давности загрязнения
(с использованием данных Калина Г.П., Чистович Г.Н., 1969)

Вид загрязнения	Санитарно-показательные микроорганизмы			
	БГКП (ОКБ), ТКБ	энтерококки	термофилы	нитрификаторы
фекальное свежее	+++ ТКБ	+++	\pm	\pm
фекальное относительно давнее	++ БГКП (ОКБ)	\pm	\pm	++
фекальное давнее	\pm	\pm	\pm	++
разлагающиеся органические субстраты; свежее	+++ БГКП (ОКБ)	+	+(+)	+
разлагающиеся органические субстраты; давнее	\pm	\pm	++(+)	++

+++ очень много; ++ много; + мало; \pm очень мало или отсутствуют.

5.3. Краткая характеристика патогенных бактерий рода *Salmonella*

Патогенные бактерии, в отличие от санитарно-показательных микроорганизмов, являются прямыми индикаторами эпидемической опасности окружающей среды. Среди них чаще всего при проведении санитарно-микробиологической оценки природных объектов устанавливают присутствие бактерий рода *Salmonella*. Бактерии данного рода относятся к семейству *Enterobacteriaceae*, являются наиболее устойчивыми из патогенных представителей данного семейства и поэтому используются для контроля присутствия патогенных энтеробактерий в окружающей среде.

К роду *Salmonella* относятся возбудители брюшного тифа, паратифов А и В, сальмонеллезов (или пищевых токсикоинфекций).

Сальмонеллы содержат эндотоксин, который играет большую роль в патогенезе заболеваний, способствуя быстрому проникновению возбудителей из кишечника в лимфатическую систему и кровь и вызывая интоксикацию организма. Все заболевания, вызываемые сальмонеллами, характеризуются поражением желудочно-кишечного тракта и общей интоксикацией.

Брюшной тиф и паратифы А и В – острые инфекционные заболевания, возбудителями которых являются соответственно *S. typhi* и *S. paratyphi* А и В. Впервые были обнаружены в 1880 г. Эбертом у людей, умерших от брюшного тифа, в 1884 г. выделены Гаффки в чистую культуру.

Источником распространения инфекции – больной человек и бактерионоситель, а при паратифе В им могут быть и животные (крупный рогатый скот и др.). После перенесенного заболевания часть переболевших людей остаются длительное время бактерионосителями (иногда на многие месяцы и даже годы). Восприимчивость высокая и не зависит от возраста и пола.

Механизм передачи – фекально-оральный; пути передачи – пищевой (особенно часто инфицированные молоко, холодные мясные блюда и др.), водный, контактно-бытовой (через загрязненные руки, посредством механических переносчиков – мух и др.).

Наиболее часто встречаются сальмонеллезы, протекающие по типу пищевых токсикоинфекций. Это острые кишечные заболевания, возбудителями которых чаще всего являются *S. typhimurium* и *S. enteritidis*. Впервые выделены в 1885 г. Сальмоном от больных свиней.

Источником сальмонелл – возбудителей пищевых токсикоинфекций являются больные животные или бактерионосители (коровы, овцы, лошади, свиньи, кошки, собаки и др.). Основную роль в возникновении заболеваний играет крупный рогатый скот, свиньи, домашняя птица. Человек – больной или бактерионоситель – может также быть источником возбудителей, но его роль в возникновении пищевых токсикоинфекций незначительна.

Механизм передачи – фекально-оральный; пути передачи – пищевой, водный, контактно-бытовой (через загрязненные руки и др.). Сальмонеллы – возбудители пищевых токсикоинфекций – попадают в окружающую среду с хозяйственно-фекальными сточными, талыми, ливневыми водами, содержащими выделения кишечника человека и животных. Наибольшее значение в загрязнении сальмонеллами вод открытых водоемов имеют сточные воды боен, птицефабрик, скотных дворов, имеющие высокую обсемененность сальмонеллами. Загрязнение водоемов приводит к тому, что животные заражаются во время водопоя, а затем заболевают или остаются бактерионосителями.

Резистентность возбудителя. Сальмонеллы вне организма обладают высокой степенью устойчивости к воздействию различных факторов окружающей среды. Они хорошо переносят низкую температуру, выдерживают замораживание в течение нескольких месяцев. В холодной стоячей воде сохраняются до 2 лет, в водопроводной – до 3 мес., в почве – от 1 до 9 мес. Однако они быстро погибают под действием высокой температуры: при 70⁰ С – через 5 – 10 мин., при кипячении – мгновенно. Губительно действуют на сальмонелл прямые солнечные лучи, дезинфицирующие средства. Сальмонеллы могут длительно сохраняться в различных пищевых продуктах: мясе, мясном фарше, студне, молоке, кондитерских изделиях и при благоприятных условиях размножаться в них.

5.4. Микроорганизмы – индикаторы санитарного состояния водной среды

Качество воды – характеристика состава и свойств воды, определяющая пригодность ее для конкретных видов водопользования [ГОСТ 27065-86].

В целях контроля за качеством воды российским законодательством, Минздравом и Госкомсанэпиднадзором Российской Федерации разработаны и приняты основополагающие документы [Водный кодекс., 1995; СанПиН 2.1.4.1074-01; СанПиН 2.1.5.980-00; Правила охраны., 1991; Методические указания.,

2001, 2004 и др.], которые устанавливают нормативы и санитарные требования для воды с учетом рекомендаций World Health Organization (Всемирной Организации Здравоохранения – ВОЗ [Guidelines for..., 1983, 1984]).

В частности, СанПиН 2.1.5.980-00 устанавливает нормативы и требования:

- к качеству воды поверхностных водных объектов в пунктах питьевого, хозяйственно-бытового и рекреационного водопользования;

- к условиям отведения сточных вод в водные объекты;
к размещению, проектированию, строительству, реконструкции и эксплуатации хозяйственных и др. объектов, способных оказать влияние на состояние поверхностных вод;

- к организации контроля за качеством воды водных объектов.

Назначение норм состоит в предупреждении возможности токсического действия загрязнителей на организм человека, изменения органолептических свойств воды, распространения инфекционных заболеваний, угнетения водных организмов, которые обеспечивают процессы биологического самоочищения водоемов. Отдельные нормативы дифференцированы для двух категорий водопользования.

К *первой категории водопользования* относится использование водных объектов или их участков в качестве источника питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения, а также для водоснабжения предприятий пищевой промышленности.

Ко *второй категории водопользования* относится использование водных объектов или их участков в рекреационных целях.

Оценку качества вод проводят по следующим показателям:

- органолептическим (температура, запах, привкус, цветность, мутность);

- химическим (показатели химического состава);

- санитарным (ПАВ, БПК, ХПК, перманганатная окисляемость, аммоний, нитриты, нитраты);

- биологическим (микробиологическим, паразитологическим).

Микробиологическими показателями качества воды поверхностных водных объектов являются следующие (по СанПиН 2.1.5.980-00; МУК 4.2.1884–04):

Основные:

1. Количество ОКБ и ТКБ.

ОКБ – основной показатель при оценке качества воды водоемов в местах водозаборов для централизованного водоснабжения, рекреации, в черте населенных пунктов. Он обладает индикаторной надежностью в отношении возбудителей бактериальных кишечных инфекций и является наиболее чувствительным показателем при выявлении источников фекального загрязнения.

ТКБ определяют одновременно в одном и том же посеве с ОКБ для подтверждения фекального происхождения загрязнения. Уровни ОКБ и ТКБ в воде водоемов, загрязняемых сточными водами, близки. По мере удаления от источника загрязнения и воздействия факторов самоочищения различия в численности этих групп индикаторов возрастают.

2. Численность колифагов.

Колифаги – бактериальные вирусы, способные лизировать кишечную палочку и формировать зоны лизиса (бляшки) через 18 ± 2 ч при температуре 37 ± 1 °С на ее газоне на питательном агаре. Этот показатель является индикатором возможного вирусного загрязнения воды и определяется при оценке качества воды поверхностных водоемов, служащих источником питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения, для рекреационного водопользования, а также в черте населенных мест.

3. Присутствие бактерий рода *Salmonella* семейства *Enterobacteriaceae*.

Определение бактерий рода *Salmonella*, как наиболее устойчивых из патогенных представителей семейства *Enterobacteriaceae*, проводят для контроля присутствия патогенных микроорганизмов в местах водопользования. Данный показатель используют: при выборе новых источников водоснабжения и зон рекреации; при установлении влияния сточных вод на водоем; при превышении нормативов по ОКБ и ТКБ; при ухудшении са-

нитарно-гигиенической обстановки (появление новых источников загрязнения, при метеорологических условиях, приводящих к смыву загрязнений с прилегающих территорий, экстремальных ситуациях и т.п.).

Дополнительные:

1. Общее число микроорганизмов (ОМЧ).

К ОМЧ относят мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (МАФАМ), способных образовывать на питательном агаре колонии, видимые при увеличении в 2 раза при температуре 37°C в течение 24 часов (ОМЧ 37°C) и при температуре 22°C в течение 72 часов (ОМЧ 22°C).

ОМЧ не нормируется в воде водоемов в местах действующих водозаборов централизованного питьевого водоснабжения, в черте населенных мест, в зонах рекреации, поскольку уровень этой группы микроорганизмов в большей мере зависит от природных особенностей каждого объекта, времени года и т.п.

Однако при выборе нового источника водоснабжения или места рекреации в воде водоемов дополнительно определяют ОМЧ 37°C и ОМЧ 22°C .

ОМЧ 37°C – индикаторная группа микроорганизмов, в числе которых определяют в большей мере аллохтонную микробиоту, внесенную в водоем в результате антропогенного загрязнения, в том числе фекального.

ОМЧ 22°C – индикаторная группа микроорганизмов, в числе которых, помимо аллохтонной, определяют автохтонную микробиоту данного водоема.

При температуре 22°C , как правило, вырастает больше сапрофитных микроорганизмов, чем при температуре 37°C . Соотношение численности этих групп микроорганизмов позволяет судить об интенсивности процесса самоочищения, активными участниками которого они являются. Эта разница более выражена при завершении процесса самоочищения (коэффициент соотношения ОМЧ 22°C : ОМЧ 37°C равен 4 и выше). В местах загрязнения хозяйственно-бытовыми сточными водами численные значения обеих групп близки.

Показатель позволяет получать дополнительную информацию о санитарном состоянии водоемов, источниках загрязнения, процессах самоочищения.

2. Присутствие спор сульфитредуцирующих клостридий.

В воде источников централизованного питьевого водоснабжения клостридии определяют в связи с использованием этого показателя для оценки эффективности обработки питьевой воды на этапах технологических процессов, поскольку споры сульфитредуцирующих клостридий являются более устойчивыми, чем вегетативные клетки бактерий, к воздействию обеззараживающих агентов, а также неблагоприятных факторов, действующих на микроорганизмы в водоемах. Длительность выживания этих микроорганизмов в водоемах превышает таковую сальмонелл, что позволяет рассматривать данную группу как индикатор давнего фекального загрязнения водных объектов.

3. Наличие *Escherichia coli*.

E. coli – индикаторная группа бактерий, включающая такие термотолерантные колиформы (ТКБ), которые помимо ферментации лактозы при температуре 44 °С образуют индол из триптофана. Этот показатель определяют дополнительно при выборе источника водоснабжения, для оценки качества воды поверхностных водоемов с целью расшифровки характера и происхождения микробного загрязнения, превышающего норматив.

Наличие в воде *E. coli* свыше 100 КОЕ в 100 мл свидетельствует о недавнем поступлении фекального загрязнения, о незавершенных процессах самоочищения, о несоблюдении требований к очистке сточных вод и т.п. В этих случаях соотношение числа колиформных бактерий и *E. coli*, как правило, менее 10 и водопользование из такого водоема представляет потенциальную эпидемическую опасность.

4. Численность энтерококков.

Энтерококки определяют в качестве дополнительного показателя при выборе нового источника централизованного водоснабжения. В воде действующих источников водоснабжения и

местах рекреации этот показатель используют для подтверждения фекального характера загрязнения. Энтерококки рекомендуется определять при превышающем нормативы уровне ОКБ и при этом низком числе *E. coli* (менее 50-100 в 100 мл воды), а также в случаях несоответствия оценки качества воды по основным показателям и санитарной ситуации на водных объектах.

При числе энтерококков свыше 50 в 100 мл предполагается поступление свежего фекального загрязнения и потенциальная эпидемическая опасность.

5. Численность стафилококков.

Стафилококки определяют в воде водоемов, используемых для купания, как показатель загрязнения воды микробиотой верхних дыхательных путей и кожных покровов человека. Сигнальное значение для регламентации нагрузки на зону купания имеет наличие свыше 10 кл стафилококков в 100 мл воды.

Оценка качества воды водных объектов в контрольных строениях и в местах питьевого, хозяйственно-бытового и рекреационного водопользования по микробиологическим показателям проводится в соответствии с нормативами, приведенными в табл. 20.

К особо важным объектам жизнеобеспечения человека относятся системы питьевого водоснабжения, поэтому их функционирование и контроль качества подаваемой населению воды должны обеспечиваться в приоритетном порядке.

В зависимости от забора воды различают несколько видов водоснабжения:

1. *Централизованное* питьевое и хозяйственно-бытовое водоснабжение – комплекс инженерных сооружений для забора, подготовки, транспортирования и подачи потребителю питьевой воды.

2. *Нецентрализованное (местное)* питьевое и хозяйственно-бытовое водоснабжение – использование подземных или поверхностных водоисточников для питьевых и бытовых нужд при помощи водозаборных устройств без разводящей водопроводной сети.

**Микробиологические показатели качества воды
водных объектов в контрольных створах
и в местах питьевого, хозяйственно-бытового
и рекреационного водопользования (по СанПиН 2.1.5.980-00)**

№	Показатели	Категории водопользования	
		Для питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения, а также для водоснабжения пищевых предприятий	Для рекреационного водопользования, а также в черте населенных мест
1	Возбудители кишечных инфекций	Вода не должна содержать возбудителей кишечных инфекций	
2	Термотолерантные колиформные бактерии *	Не более 100 КОЕ/100 мл *	Не более 100 КОЕ/100 мл
3	Общие колиформные бактерии *	Не более	
		100 КОЕ/100 мл*	500 КОЕ/100 мл
4	Колифаги *	Не более	
		10 БОЕ/100 мл*	10 БОЕ/100 мл

* Для централизованного водоснабжения; при нецентрализованном питьевом водоснабжении вода подлежит обеззараживанию.

Качество питьевой воды *централизованных систем водоснабжения* должно соответствовать требованиям СанПиН 2.1.4.1074-01. Питьевая вода должна быть безопасна в эпидемическом и радиационном отношении, безвредна по химическому составу и иметь благоприятные органолептические свойства.

Индикаторами эпидемической безопасности питьевой воды являются следующие: термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ), общие колиформные бактерии (ОКБ), общее микробное число (ОМЧ) и колифаги (табл. 21).

Требования к *качеству воды нецентрализованного водоснабжения* регламентированы СанПиН 2.1.4.544-96. В качестве индикатора эпидемической безопасности воды используется показатель численности БГКП: коли-индекс не должен превышать 10.

Таблица 21

Микробиологические показатели качества питьевой воды (по СанПиН 2.1.4.1074-01)

Показатели	Единицы измерения	Нормативы
Термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ)	Число бактерий в 100 мл	Отсутствие
Общие колиформные бактерии (ОКБ) <1>	Число бактерий в 100 мл	Отсутствие
Общее микробное число (ОМЧ) <1>	Число образующих колонии бактерий в 1 мл	Не более 50
Колифаги <2>	Число бляшкообразующих единиц (БОЕ) в 100 мл	Отсутствие
Споры сульфитредуцирующих клостридий <3>	Число спор в 20 мл	Отсутствие

<1> Превышение норматива не допускается в 95% проб, отбираемых в точках водоразбора наружной и внутренней водопроводной сети в течение 12 месяцев, при количестве исследуемых проб не менее 100 за год.

<2> Определение проводится только в системах водоснабжения из поверхностных источников перед подачей воды в распределительную сеть.

<3> Определение проводится при оценке эффективности технологии обработки воды.

Если при текущем контроле за качеством воды в источнике нецентрализованного водоснабжения (колодце, роднике и др.) отмечено увеличение коли-индекса по сравнению с нормативом, следует провести дополнительные исследования воды на наличие фекальных колиформных бактерий, а также аммонийных соединений, нитратов и хлоридов. Появление указанных химических веществ в воде в концентрациях, превышающих нормативные величины, или увеличение содержания их по сравнению с результатами предыдущих исследований в комплексе с микробиологическими показателями свидетельствует о наличии органического загрязнения воды. Это служит сигналом для установления возможных причин загрязнения и проведения профилактических мероприятий.

5.5. Микроорганизмы – индикаторы санитарного состояния почв

Санитарно-микробиологическая оценка почвы является важным звеном при осуществлении предупредительного и текущего санитарного надзора за качеством почв.

Предупредительный надзор осуществляется:

- 1) при планировке, строительстве и реконструкции вновь за-
сеяемых участков и населенных мест;
- 2) при выборе участков для строительства детских дошколь-
ных учреждений, санаториев, мест отдыха и т.п.;
- 3) при строительстве водохранилищ;
- 4) при решении вопросов водоснабжения и канализации;
- 5) при санитарной оценке почв на полях орошения и т.д.

Текущий санитарный надзор осуществляется:

- 1) при оценке степени биологической контаминации почвы и
ее способности к самоочищению;
- 2) при контроле за почвенными и биотермическими метода-
ми обезвреживания сточных вод;
- 3) по эпидемическим показаниям для выяснения возможных
путей передачи возбудителей инфекционных заболеваний через
почву.

Санитарное состояние почв* населенных мест оценивается комплексно по санитарно-химическим, санитарно-бактериологи-
ческим, санитарно-паразитологическим, санитарно-энтомологи-
ческим показателям. Последние три группы показателей отража-
ют степень биологического загрязнения почв. Рассмотрим более
подробно санитарно-бактериологические показатели.

В загрязненной почве на фоне уменьшения истинных пред-
ставителей почвенных микробоценозов (антагонистов патогенной
кишечной микрофлоры) и снижения ее биологической активно-

* *Санитарное состояние почвы* – совокупность физико-химических и био-
логических свойств почвы, определяющих качество и степень ее безопасности в
эпидемическом и гигиеническом отношениях.

сти отмечается увеличение положительных находок патогенных энтеробактерий, которые более устойчивы к химическому загрязнению почвы, чем представители естественных почвенных микробоценозов. Это является одной из причин необходимости контроля эпидемической безопасности почвы населенных пунктов, т.к. с увеличением химической нагрузки эпидемическая опасность почвы может возрасть.

На объектах повышенного риска воздействия на здоровье населения (детских и образовательных учреждений, спортивных, игровых, детских площадок жилой застройки, площадок отдыха, зон рекреации, зон санитарной охраны водоемов, прибрежных зон, санитарно-защитных зон) оценка санитарного состояния почвы проводится по следующим санитарно-бактериологическим показателям:

1. *Косвенные*, характеризующие интенсивность биологической нагрузки на почву. Это санитарно-показательные микроорганизмы: бактерии группы кишечной палочки (общие колиформные бактерии) и энтерококки. В крупных городах с большой плотностью населения индексы санитарно-показательных микроорганизмов, как правило, велики, что указывает на очень высокую биологическую нагрузку на почву. На свежее фекальное загрязнение почвы указывает наличие высокого индекса БГКП при низких титрах нитрификаторов, термофилов, а также относительно высокое содержание вегетативных форм *C. perfringens*. Обнаружение энтерококков всегда свидетельствует о свежем фекальном загрязнении, каковы бы ни были другие показатели.

2. *Прямые* санитарно-бактериологические показатели эпидемической опасности почвы. Это обнаружение возбудителей кишечных инфекций – патогенных энтеробактерий, энтеровирусов.

Результаты анализов оцениваются в соответствии с табл. 22. Почву оценивают как "чистую" по санитарно-бактериологическим показателям при отсутствии патогенных бактерий и индексе санитарно – показательных микроорганизмов до 10 кл /г почвы.

При отсутствии возможности прямого определения в почвах патогенных энтеробактерий и энтеровирусов оценка безопасности может быть проведена ориентировочно по косвенным показателям (индикаторным микроорганизмам). О возможности загряз-

нения почвы сальмонеллами свидетельствует индекс санитарно-показательных микроорганизмов (БГКП и эктерококков) 10 и более кл/г почвы. Концентрация колифага в почве на уровне 10 БОЕ / г и более свидетельствует об инфицировании почвы энтеровирусами.

При необходимости углубленной оценки санитарного состояния почвы и ее способности к самоочищению проводят исследования по биологической активности почвы (см. гл. 3, п. 3.2.4).

Таблица 22

Оценка степени биологического загрязнения почвы
(по СанПиН 2.1.7.1287-03)

Объекты	Категория загрязнения	Показатели (кл/г)			
		Индекс БГКП	Индекс эктерококков	Патогенные энтеробактерии, в т.ч. сальмонеллы	Энтеровирусы
Зоны повышенного риска: территории детских дошкольных и школьных учреждений, зон рекреации, огородов, выгульных площадок	Чистая	1–9	1–9	–	–
	Загрязненная	10 и выше	10 и выше	+	+
Зоны санитарной охраны водоемов	Чистая	1–9	1–9	1–9	–
	Загрязненная	10 и выше	10 и выше	10 и выше	+
Санитарно-защитные зоны	Чистая	1–99	1–99	–	–
	Загрязненная	100 и выше	100 и выше	+	+

Примечание: "–" – отсутствие в почве; "+" – наличие в почве

5.6. Микроорганизмы – индикаторы санитарного состояния воздушной среды

Задачами санитарно-микробиологического исследования воздуха являются:

- гигиеническая и эпидемиологическая оценка воздушной среды;
- разработка комплекса мероприятий, направленных на профилактику аэрогенной передачи возбудителей инфекционных болезней.

При оценке санитарного состояния *закрытых помещений* в зависимости от задач исследования определяют:

- общее микробное число;
- присутствие санитарно-показательных микроорганизмов (стафилококков, α - и β -гемолитических стрептококков);
- условно-патогенных микроорганизмов р. *Proteus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка) и др. – при обследовании хирургических, родильных отделений, т.к. представители данных родов могут вызывать внутрибольничные инфекции или осложнения после операций;
- непосредственно патогенных микроорганизмов – по эпидемическим показаниям при расшифровке вспышек заболеваний, передающихся аэрогенным путем.

Санитарно-микробиологическое исследование воздуха закрытых помещений проводится в медицинских, детских, культурных учреждениях, на различных предприятиях.

В лечебных учреждениях в зависимости от их функционального назначения оценка качества воздушной среды проводится по микробиологическим показателям в соответствии с СанПиН 2.1.3.1375-03. При этом в качестве индикаторов класса чистоты воздуха используются следующие микробиологические показатели:

- общее микробное число;
- количество колоний золотистого стафилококка (*S.aureus*);
- количество плесневых и дрожжевых грибов (табл. 23).

**Уровни бактериальной обсемененности
воздушной среды помещений лечебных учреждений**

Класс чистоты	Название помещения	Санитарно-микробиологические показатели					
		общее микробное число (КОЕ/м ³)		Кол-во колоний S. aureus (КОЕ/м ³)		Кол-во плесневых и дрожжевых грибов в 1 дм ³ воздуха	
		до начала работы	во время работы	до начала работы	во время работы	до начала работы	во время работы
Особо чистые (А)	операционные, родильные залы, боксы для гематологических, ожоговых пациентов, палаты для недоношенных детей, боксы баклабораторий	не более 200		не должно быть		не должно быть	
Чистые (Б)	процедурные, перевязочные, палаты реанимации, детские палаты	не более 500		не должно быть		не должно быть	
Условно чистые (В)	палаты хирургических отделений, коридоры, прилегающие к операционным залам, ординаторские, смотровые боксы, кладовые чистого белья	не более 750	не более 1000	не должно быть	не более 2	не должно быть	
Грязные (Г)	коридоры и помещения административных зданий, лестничные марши, комнаты для грязного белья, санитарные комнаты, туалеты	не нормируется		не нормируется		не нормируется	

Важными объектами санитарно-микробиологического контроля за состоянием воздуха являются парикмахерские. Санитарно-эпидемиологические требования к парикмахерским установлены СанПиН 2.1.2.1199-03. Контроль за бактериальной обсемененностью воздуха проводится с целью предотвращения возникновения и распространения инфекционных и неинфекционных заболеваний среди клиентов и персонала парикмахерских независимо от их категории по уровню обслуживания клиентов. Качество воздушной среды контролируется в кабинетах педикюра, маникюра и косметическом.

Индикаторами санитарного состояния являются:

- общее микробное число;
- количество колоний золотистого стафилококка (*S. aureus*);
- количество плесневых и дрожжевых грибов.

При оценке санитарного состояния руководствуются нормами, указанными в табл. 24.

Таблица 24

***Микробиологические показатели качества воздушной среды
(по СанПиН 2.1.2.1199-03)***

Показатели	Бактериальная обсемененность воздушной среды кабинетов педикюра, маникюра, косметического
Общее микробное число (КОЕ/м ³)	Не более 1500
Кол-во колоний <i>S. aureus</i> (КОЕ/м ³)	Не более 100
Кол-во плесневых и дрожжевых грибов в 1 дм ³ воздуха	Не более 20

Следует отметить, что разработка нормативов по бактериальной обсемененности воздушной среды представляет большие трудности, прежде всего из-за того, что воздух – среда очень динамичная и его санитарно-микробиологическое состояние зависит от многих факторов.

В связи с этим при оценке качества воздушной среды не всегда возможно сравнение с узаконенными нормами, часто приходится ориентироваться на «местные» нормативы, которые устанавливают для каждого помещения после его тщательной уборки

как среднее арифметическое нескольких исследований. Полученные результаты принимают за "норматив" для данного помещения.

Так, не существует нормативов по бактериальной обсемененности воздуха закрытых жилых помещений. Для оценки качества воздуха таких помещений можно пользоваться критериями, приведенными в табл. 18.

Во всех случаях, когда в воздухе жилых или производственных помещений обнаруживаются патогенные микроорганизмы, воздух считается загрязненным и эпидемически опасным.

Для характеристики санитарного состояния *атмосферного воздуха* рекомендуется определять общее микробное число, а также качественный состав микроорганизмов с учетом спорообразующих аэробов, анаэробов и гемолитических бактерий.

Санитарно-микробиологическому исследованию в последнее время все чаще подвергается воздух крупных животноводческих комплексов и птицефабрик, т.к. в нем могут присутствовать в больших количествах стафилококки, стрептококки, клостридии, бактерии кишечной группы, микроскопические грибы и др.

В местах орошения земледельческих полей сточными водами методом дождевания проводят исследования с целью обнаружения сальмонелл, патогенных эшерихий. Такие исследования проводят по эпидемическим показаниям при появлении случаев заболевания среди персонала или населения.

Вопросы и задания для контроля знаний

1. Какие микроорганизмы относят к санитарно-показательным?
2. О чем свидетельствует присутствие санитарно-показательных микроорганизмов в окружающей среде?
3. Какие микроорганизмы являются индикаторами фекального загрязнения окружающей среды?
4. Объясните понятия ОКБ и ТКБ.
5. Какие микроорганизмы являются индикаторами воздушно-капельного загрязнения окружающей среды?
6. Какие микроорганизмы являются индикаторами загрязнения окружающей среды органическими веществами?

7. Какие микробиологические показатели являются основными индикаторами качества воды поверхностных водоемов?

8. Каким образом по соотношению ОМЧ 22°C : ОМЧ 37°C можно судить о санитарном состоянии водных объектов?

9. Какие микробиологические показатели используют для оценки эпидемической (без)опасности питьевой воды централизованного и нецентрализованного водоснабжения?

10. Каким образом химическое загрязнение почв может отразиться на ее эпидемической (без)опасности?

11. На каких объектах в первую очередь проводят оценку санитарного состояния почв?

12. Какие санитарно-показательные микроорганизмы являются индикаторами высокой биологической нагрузки на почву?

13. В чем состоит особенность санитарно-микробиологической оценки воздушной среды?

14. По каким показателям оценивают санитарное состояние атмосферного воздуха?

15. Для каких закрытых помещений разработаны нормативы по бактериальной обсемененности воздуха и почему?

Литература

1. ГОСТ 27065-86 (СТ СЭВ 5184-85) Охрана природы. Гидросфера. Качество вод. – М.: Гос. ком. СССР по стандартам, 1986.
2. СанПиН 2.1.4.544-96. Санитарные правила и нормы. Требования к качеству воды нецентрализованного водоснабжения. Санитарная охрана источников. – М.: Минздрав России, 1996. – 36 с.
3. СанПиН 2.1.5.980-00. Санитарные правила и нормы. Гигиенические требования к охране поверхностных вод. – М.: Минздрав России, 2000. – 24 с.
4. СанПиН 2.1.4.1074-01. Санитарные правила и нормы. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. – М.: Минздрав России, 2002. – 103 с.
5. СанПиН 2.1.7.1287-03. Санитарные правила и нормы. Почва. Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы. – М.: Минздрав России, 2003. – 43 с.
6. СанПиН 2.1.3.1375-03. Санитарные правила и нормы. Гигиенические требования к размещению, устройству, оборудованию и эксплуатации больниц, родильных домов и других лечебных стационаров. <http://www.polisept.com/sanpini/index.html>
7. СанПиН 2.1.2.1199-03. Санитарные правила и нормы. Парикмахерские. Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию. – М.: Минздрав России, 2003. – 21 с.
8. Аристовская, Т.В. Микробиология процессов почвообразования / Т.В. Аристовская. – Л.: Наука, 1980. – 187 с.
9. Бабьева, И.П. Биология почв / И.П. Бабьева, Г.М. Зенова. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 336 с.
10. Безкоровайная, И.Н. Биологическая диагностика и индикация почв: краткий курс лекций/ Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2001. – 40 с.

11. Белькова, Н.Л. Видовое разнообразие глубоководных микроорганизмов озера Байкал, выявленное по последовательностям 16S Rphk / Н.Л. Белькова и др. // Докл. АН. – 1996. – Т. 348. – С. 692-695.

12. Биоиндикация: теория, методы, приложения / под ред. Г.С. Розенберга. – Тольятти: Интер-Волга, 1994. – 266 с.

13. Брызгало, В.А. О возможностях оценки качества природных вод по гетеротрофной активности микроорганизмов / В.А. Брызгало, Л.С. Косменко, Л.П. Соколова, Б.Г. Попадьин // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод: сб. трудов. – Вып. 1. – Л.: Гидрометеиздат, 1987. – С. 118-127.

14. Водный кодекс Российской Федерации. Принят Государственной Думой 18 октября 1995 года. <http://www.medinfo.ru/ecolog/ek3.shtml>

15. Виноградский, С.Н. Микробиология почвы / С.Н. Виноградский. – М.: Изд-во АН СССР, 1952.

16. Гавришова, Н.А. Распространение гетеротрофных и олигокарбофильных бактерий в водоемах и водотоках Украины / Н.А. Гавришова // Структура и функционирование сообществ водных микроорганизмов. – Новосибирск: Наука, 1986. – С. 211-213.

17. Головченко, А.В. Особенности пространственного распределения и структуры микробных комплексов болотно-лесных экосистем / А.В. Головченко и др. // Почвоведение. – 1993. – № 10. – С. 78-89.

18. Горленко, В.М. Экология водных микроорганизмов / В.М. Горленко, Г.А. Дубинина, С.И. Кузнецов. М.: Наука, 1977. – 288 с.

19. Гузев, В.С. Структура инициированного микробного сообщества как интегральный метод оценки микробиологического состояния почвы / В.С. Гузев, Н.Г. Бондаренко, Б.А. Бызов, Т.Г. Мирчинк, Д.Г. Звягинцев // Микробиология. – 1980. – Т. 49. № 1. – С. 134-140.

20. Гузев, В.С. Тяжелые металлы как фактор воздействия на микробную систему почв / В.С. Гузев, С.В. Левин, И.П. Бабьева // Экологическая роль микробных метаболитов / под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1986. – С. 82-104.

21. Гузев, В.С. Минеральные удобрения и микробный токсикоз почв / В.С. Гузев, А.В. Кураков, Т.Г. Мирчинк. // Там же. – С. 65-82.

22. Гузев, В.С. Экологическая оценка антропогенных воздействий на микробную систему почвы: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. / Гузев В.С. – М., 1988. – 38 с.

23. Денисова, Л.Я. Биоразнообразие бактерий на различных глубинах южной котловины озера Байкал, выявленное по последовательностям 16S рРНК / Л.Я. Денисова и др. // Микробиология. – 1999. – Т. 68. № 4. – С. 547-556.

24. Дзюбан, А.Н. Численность бактерий и микробиологические процессы в воде Тугурского залива Охотского моря / А.Н. Дзюбан // Микробиология. – 2003. – Т. 72, № 3. – С. 419-426.

25. Дзюбан, А.Н. Оценка экологического состояния водохранилищ Верхней Волги по критериям бактериобентоса / А.Н. Дзюбан, Д.Б. Косолапов, И.А. Кузнецова // Биотехнологические проблемы бассейна Верхней Волги: Сб. науч. трудов / под ред. В.П. Семерного. – Ярославль, 1998. – С. 43-48.

26. Добровольская, Т.Г. Коринеподобные бактерии в бактериальных ценозах почв сухих субтропиков / Т.Г. Добровольская, Л.В. Лысак // Почвоведение. – 1986. – № 2. – С. 81-85.

27. Добровольская, Т.Г. Вертикально-ярусная структура бактериальных комплексов в пустыне Негев (Израиль) / Т.Г. Добровольская, И.Ю. Чернов, Г.М. Зенова // Микробиология. – 1996. – Т. 65, вып. 2. – С. 282-287.

28. Драбкова, В.Г. Гетеротрофное усвоение глюкозы бактериопланктоном озер разного типа / В.Г. Драбкова, В. Страшкрабова, И. Фукса // Микробиология. – 1990. – Т. 59, вып. 6. – С. 1112-1117.

29. Драчук, С.В. Фотогетеротрофные пурпурные бактерии в почвах, загрязненных углеводородами: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. / С.В. Драчук. – Тюмень, 2004. – 23 с.

30. Звягинцев, Д.Г. Диагностические признаки различных уровней загрязнения почвы нефтью / Д.Г. Звягинцев и др. // Почвоведение. – 1989. – № 1. – С. 72-78.

31. Звягинцев, Д.Г. Почва и микроорганизмы / Д.Г. Звягинцев. М.: Изд-во МГУ, 1987. – 255 с.

32. Звягинцев, Д.Г. Структурно-функциональная организация микробных сообществ наземных экосистем / Д.Г. Звягинцев, Т.Г. Добровольская, И.П. Бабьева, Г.М. Зенова, Л.В. Лысак, Л.М. Полянская, И.Ю. Чернов // Экология и почвы. Избранные лекции I – VII Всерос. Школ. – Пущино: ОНТИ ПНЦ РАН, 1998. – С. 34-84.

33. Звягинцев, Д.Г. Развитие представлений о структуре микробных сообществ почв / Д.Г. Звягинцев, Т.Г. Добровольская, И.П. Бабьева, И.Ю. Чернов // Почвоведение. – 1999. – № 1. – С. 134-144.

34. Звягинцев, Д.Г. Новые подходы к изучению сукцессии микроорганизмов в почве / Д.Г. Звягинцев, Г.А. Кочкина, П.А. Кожевин // Почвенные организмы как компоненты биогеоценоза. – М.: Наука, 1984. – С. 81-103.

35. Зенова, Г.М. Актиномицеты в биогеоценозах / Г.М. Зенова // Почвенные организмы как компонент биогеоценоза. – М.: Наука, 1984. – С. 162-171.

36. Зенова, Г.М. Антропогенные изменения структуры комплекса почвенных актиномицетов / Г.М. Зенова, Д.Г. Звягинцев // Почвоведение. – 1998. – № 6. – С. 680-688.

37. Израэль, Ю.А. Концепция мониторинга состояния биосферы / Ю.А. Израэль // Мониторинг состояния окружающей природной среды: Труды 1 советско-английского симпозиума. – Л.: Гидрометеиздат, 1977. – С. 10-25.

38. Илялетдинов, А.Н. Микроорганизмы круговорота азота – индикаторы загрязнения водоема / А.Н. Илялетдинов, В.А. Верховина // Известия АН КазССР. Серия биологическая, 1982. – № 3. – С. 44-49.

39. Калужский государственный педагогический университет им. К.Э. Циолковского. Лаборатория биоиндикации. <http://kspu.kaluga.ru/biomon>

40. Кожова, О.М. Морфологическое разнообразие планктонных бактерий как показатель качества вод / О.М. Кожова, Н.В. Дутова // Гидробиол. журн. – 1989. – Т. 25, № 1. – С. 42-48.

41. Кондакова, Г.В. Изменения, происходящие в комплексе почвенных микроорганизмов под влиянием антропогенного воздействия на территории биостанции «Улейма» ЯрГУ / Г.В. Кондакова // Биотехнологические проблемы бассейна Верхней Волги: Сб. науч. трудов / под ред. В.П. Семерного. Ярославль, 1998. – С. 111-118.

42. Кондакова, Г.В. Бактериальные процессы циклов углерода и азота в глубинных водах литосферы / Г.В. Кондакова, Н.В. Верховцева, Г.А. Осипов // Вестник МГУ. Сер. 16 Биология. – 2002. – № 4. – С. 26-33.

43. Красильников, Н.А. Микроорганизмы почвы и высшие растения / Н.А. Красильников. – М.: Изд-во АН СССР, 1958. – 464 с.

44. Криволуцкий, Д.А. Экологическое нормирование на примере радиоактивного и химического загрязнения экосистем / Д.А. Криволуцкий, А.М. Степанов, Ф.А. Тихомиров, Е.А. Федоров // Методы биоиндикации окружающей среды в районах АЭС. – М.: Наука, 1988. – С. 4-16.

45. Кузнецов, С.И. Микрофлора озер и ее геохимическая деятельность / С.И. Кузнецов. – Л.: Наука, 1970. – 440 с.

46. Куличева, Н.Н. Бактерии в почве, опаде и филлоплане городской экосистемы / Н.Н. Куличева, Л.В. Лысак, П.А. Кожевин, Д.Г. Звягинцев // Микробиология. – 1996. – Т. 65, № 3. – С. 416-420.

47. Лаптева, Н.А. Электронно-микроскопическое изучение микрофлоры Рыбинского водохранилища / Н.А. Лаптева // Микробиология. – 1976. – Т. 45, № 3. – С. 547-551.

48. Лаптева, Н.А. Электронная микроскопия микроорганизмов из лесных ламб Карелии / Н.А. Лаптева // Микробиология. – 1983. – Т. 52, № 1. – С. 114-118.

49. Лысак, Л.В. Бактерии в почвах тундры Западного Таймыра / Л.В. Лысак, Т.Г. Добровольская // Почвоведение. – 1982. – № 9. – С. 74 -77.

50. Макрушин, А.В. Биологический анализ качества вод / А.В. Макрушин / под ред. Г.Г. Винберга. – Л.: Изд-во ЗИН АН СССР, 1974. – 60 с.

51. Марголина, Г.Л. Микробиологические процессы деструкции в пресноводных водоемах / Г.Л. Марголина. – М.: Наука, 1989. – 120 с.
52. Микроорганизмы и охрана почв / Под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1989.
53. Мишустин, Е.Н. Термофильные микроорганизмы в природе и практике / Е.Н. Мишустин. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1950.
54. Мишустин Е.Н. Закон зональности и учение о микробных ассоциациях почвы / Е.Н. Мишустин // Успехи современной биологии. – 1954. – Т. 37, вып. 1. – С. 1-27.
55. Мишустин Е.Н. Микробные ассоциации почвенных типов / Е.Н. Мишустин // Проблемы и методы биологической диагностики и индикации почв. – М.: Наука, 1976. – С. 19-41.
56. Мишустин, Е.Н. Перцовская М.И. Микроорганизмы и самоочищение почвы / Е.Н. Мишустин, М.И. Перцовская. – М.: Изд-во АН СССР, 1954.
57. Мишустин, Е.Н. Санитарная микробиология почвы / Е.Н. Мишустин, М.И. Перцовская, В.А. Горбов. – М.: Наука, 1979. – 304 с.
58. Намсараев, Б.Б. Антропогенная активация бактериальной деятельности в донных осадках озера Байкал / Б.Б. Намсараев, Л.Е. Дулов, Т.И. Земская, М.В. Иванов // Микробиология. – 1995. – Т. 64, № 4. – С. 548-552.
59. Никитин, Д.И. Новые и редкие формы почвенных микроорганизмов / Д.И. Никитин, Л.В. Васильева, Р.А. Лохмачева. – М.: Наука, 1966. – 70 с.
60. Никитин, Д.И. Процессы самоочищения окружающей среды и паразиты бактерий (род *Vdellovibrio*) / Д.И. Никитин, Э.С. Никитина. – М.: Наука, 1978. – 205 с.
61. Оксийук, О.П. Комплексная экологическая классификация качества поверхностных вод суши / О.П. Оксийук, В.Н. Жукинский, Л.П. Брагинский и др. // Гидробиологический журнал. – 1993. – Т. 29, № 4 – С. 62-77.
62. Осипов, Г.А. Изучение видового состава микробного сообщества заводняемого нефтяного пласта методом хромато-масс–

спектрометрии / Г.А. Осипов, Т.Н. Назина, А.Е. Иванова // Микробиология. – 1994. – Т. 63, вып. 5. – С. 876-882.

63. Остроумов, С.А. Основные компоненты самоочищения экосистем и возможность его нарушения в результате химического загрязнения / С.А. Остроумов, В.Д. Федоров // Вестник МГУ. Серия 16, Биология. – 1999. – № 1. – С. 24 – 31.

64. Перетрухина, А.Т. Микробиология сырья и продуктов водного происхождения / А.Т. Перетрухина, И.В. Перетрухина. – СПб., ГИОРД, 2005. – 320 с.

65. Платпира, В.П. Интенсивность дыхания бактериопланктона Балтийского моря / В.П. Платпира, Р.С. Филмановича // Гидробиол. журн. – 1992. – Т. 28, № 2. – С. 56-61.

66. Правила охраны поверхностных вод. – М.: Госкомитет СССР по охране природы, 1991. – 34 с.

67. Пшеничнов, Р.А. Способ определения общей токсичности почв / Р.А. Пшеничнов, Ф.Н. Закиров, Н.М. Никитина // Комитет по патентам, 1.2.94. № 94003025.

68. Разумов, А.С. Прямой метод учета бактерий в воде. Сравнение с методом Коха / А.С. Разумов // Микробиология. – 1932. – Т. 1, вып. 2. – С. 131-146.

69. Раськова, Н.В. Изменение ферментативного комплекса почв под влиянием антропогенного фактора / Н.В. Раськова // Экологическая роль микробных метаболитов / Под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1986. – С. 41-56.

70. Реймерс, Н.Ф. Природопользование: Словарь-справочник / Н.Ф. Реймерс. – М.: Мысль, 1990. – 637 с.

71. Романенко, В.И. Общая численность бактерий в Рыбинском водохранилище / В.И. Романенко // Микробиология. – 1971. – Т. 40, вып. 4. – С. 707-713.

72. Романенко, В.И. Микробиологические процессы продукции и деструкции органического вещества во внутренних водоемах / В.И. Романенко. – Л.: Наука, 1985. – 295 с.

73. Романенко, В.И. Экология микроорганизмов пресных водоемов / В.И. Романенко, С.И. Кузнецов. – Л.: Наука, 1972. – 194 с.

74. Рубенчик, Л.И. Микроорганизмы – биологические индикаторы / Л.И. Рубенчик. – Киев: Наукова думка, 1972. – 163 с.

75. Садчиков, А. Структура бактериопланктона в двух разных по трофности водоемах / А. Садчиков, А. Куликов, В. Максимов // Биологические науки. – 1990. – № 3. – С. 79-85.

76. Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов: Методические указания (МУК 4.2.1884–04). – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2005. – 75 с.

77. Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды: Методические указания (МУК 4.2.1018-01). – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2001. – 42 с.

78. Синельников, В.Е. Механизм самоочищения водоемов / В.Е. Синельников. – М.: Стройиздат, 1980. – 111 с.

79. Сушкина, Н.Н. Микрофлора и первичное почвообразование / Н.Н. Сушкина, И.Г. Цюрупа. – М.: Наука, 1973. – 158 с.

80. Тульская, Е.М. Специфика иммобилизованных ферментов почв / Е.М. Тульская, Д.Г. Звягинцев // Экологическая роль микробных метаболитов ; под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1986. – С. 5-28.

81. Федоров, В.Д. Устойчивость экологических систем и ее измерение / В.Д. Федоров // Изв. АН СССР. Сер. биол. – 1974. – № 3. – С. 402-415.

82. Шеховцова, Н.В. Некоторые микробиологические показатели водных экосистем: метод. указания / Н.В. Шеховцова, Н.В. Верховцева. – Ярославль: ЯрГУ, 1999. – 28 с.

83. Шитиков, В.К. Количественная гидроэкология: методы системной идентификации / В.К. Шитиков, Г.С. Розенберг, Т.Д. Зинченко. – Тольятти: ИЭВБ РАН, 2003. – 463 с.

84. Шугалей, Л.С. Биологическая рекультивация нарушенных земель КАТЭКа / Л.С. Шугалей, Г.И. Яшихин, В.К. Дмитриенко. – Красноярск: Изд-во КГУ, 1996.

85. Guidelines for drinking-water quality. – Geneva: World Health Organization. Vol. 1 – Recommendations. 1983; Vol. 2 – Health Criteria and Other Supporting Information. 1984.

86. Hiorns, W.D. Bacterial diversity in Adirondack mountain lakes as revealed by 16S rRNA gene sequences / W.D. Hiorns, B.A. Methe, S.A. Nierzwicki-Bauer, J.P. Zehr // Appl. Environ. Microbiol. – 1997. – V. 5. – P. 41-45.

87. Kane, M. Molecular phylogenetic relationship between strains of cyanobacterial picoplankton in Lake Biwa, Japan / M. Kane, H. Maeda, T. Fucunaga, K. Nishi // J. Mar. Biotechnol. – 1997. – V. 5. – P. 2957-2960.
88. Kondakova, G.V. Microbial diversity variations along column of deep well / G.V. Kondakova, N.V. Shekovtsova, G.A. Osipov // Int. Symposium on Subsurface Microbiology, Copenhagen, Denmark, September 8-13, 2002. – P. 81.
89. Stead, D.E. Evaluation of a commercial microbial identification system based on fatty acid profiles for rapid, accurate identification of plant pathogenic bacteria / D.E. Stead, J.E. Sellwood, J. Wilson, et al. // J. Appl. Bacteriol. – 1992. – № 72. – P. 315-321.
90. Trusova, M.Yu. Phylogenetic diversity of winter bacterioplankton of eutrophic Siberian reservoirs as revealed by 16S rRNA gene sequences / M.Yu. Trusova, M.I. Gladyshev // Microb. Ecol. – 2002. – 44. – № 3. – P. 252-259.

Оглавление

Введение	3
Глава 1. Биологический мониторинг и биоиндикация.....	5
1.1. <i>Определение понятий «биологический мониторинг», «биоиндикация», «биоиндикаторы».....</i>	<i>5</i>
1.2. <i>Формы биоиндикации. Преимущества биоиндикаторов</i>	<i>8</i>
1.3. <i>Биоиндикация с использованием микробиологических показателей.....</i>	<i>10</i>
Глава 2. Микроорганизмы – индикаторы загрязнения водоемов.....	12
2.1. <i>Краткая характеристика микроорганизмов водоемов. Участие в самоочищении вод</i>	<i>12</i>
2.2. <i>Использование водных микроорганизмов в биоиндикаторных целях.....</i>	<i>14</i>
2.3. <i>Изучение качественного состава бактериоценозов водоемов.....</i>	<i>16</i>
2.4. <i>Количественные показатели водного бактериоценоза.....</i>	<i>28</i>
2.5. <i>Интенсивность некоторых микробиальных процессов</i>	<i>38</i>
Глава 3. Микроорганизмы – индикаторы состояния почв	43
3.1. <i>Краткая характеристика почвенных микроорганизмов и возможность их использования в целях биоиндикации.....</i>	<i>43</i>
3.2. <i>Почвенное плодородие. Самоочищение почв</i>	<i>46</i>
3.3. <i>Индикация антропогенных нарушений почв</i>	<i>66</i>

Глава 4. Микроорганизмы – индикаторы загрязнения воздушной среды.....	81
4.1. <i>Общая характеристика микроорганизмов воздушной среды и их индикаторное значение</i>	<i>81</i>
4.2. <i>Микроорганизмы – индикаторы степени общего загрязнения воздушной среды</i>	<i>84</i>
4.3. <i>Микроорганизмы – индикаторы загрязнения воздушной среды выбросами химических предприятий.....</i>	<i>85</i>
Глава 5. Микроорганизмы – индикаторы санитарного состояния окружающей среды	93
5.1. <i>Общая характеристика санитарно-показательных микроорганизмов.....</i>	<i>94</i>
5.2. <i>Краткая характеристика отдельных представителей санитарно-показательных микроорганизмов.....</i>	<i>97</i>
5.3. <i>Краткая характеристика патогенных бактерий рода Salmonella.....</i>	<i>107</i>
5.4. <i>Микроорганизмы – индикаторы санитарного состояния водной среды</i>	<i>109</i>
5.5. <i>Микроорганизмы – индикаторы санитарного состояния почв.....</i>	<i>117</i>
5.6. <i>Микроорганизмы – индикаторы санитарного состояния воздушной среды</i>	<i>120</i>
Литература.....	125

Учебное издание

Кондакова Галина Вячеславовна

**Биоиндикация.
Микробиологические показатели**

Учебное пособие

Редактор, корректор И.В. Бунакова
Компьютерная верстка И.Н. Ивановой

Подписано в печать 07.11.2007 г. Формат 60×84 ¹/₁₆.
Бумага тип. Усл. печ. л. 7,90. Уч.-изд. л. 5,84.
Тираж 100 экз. Заказ .

Оригинал-макет подготовлен
в редакционно-издательском отделе ЯрГУ.
Ярославский государственный университет.
150000 Ярославль, ул. Советская, 14.

Отпечатано
ООО «Ремдер» ЛР ИД № 06151 от 26.10.2001.
г. Ярославль, пр. Октября, 94, оф. 37
тел. (4852) 73-35-03, 58-03-48, факс 58-03-49.