

УДК 576.809.51:577.472(28)

Օ. Ա. ՓԱՆՕՅԱՆ, Ս. Վ. ԾՕՂԱԿՅԱՆ, ՅՈՒ. Գ. ՓՕՓՈՎ

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ЭКСТРЕМОФИЛЬНЫХ ФОРМ БАЦИЛЛ В ВОДАХ БАСЕЙНА ОЗ. СЕВАН

Изучена распространенность мезофильной и экстремофильной бациллярной микрофлоры в воде и иле оз. Севан, а также в артезианских и грунтовых водах у устья р. Дзкнагет. Выделены новые культуры термофильных, алкалофильных, галофильных и психрофильных бацилл.

Микроорганизмы являются одним из звеньев трофической цепи, поддерживающей экологическое равновесие в экосистемах озер [1]. В предыдущие годы были проведены достаточно подробные микробиологические исследования оз. Севан [2–4]. Однако экосистема Севана и его бассейна подвержена сильному влиянию антропогенных и природных воздействий, связанных с колебаниями уровня озера, геохимическими аномалиями, тектонической активностью в бассейне и др. [5, 6]. Не прекращающиеся воздействия антропогенных и природных факторов на озеро и меняющаяся картина окружающей среды требуют продолжения микробиологических исследований бассейна.

В нашей предыдущей работе [7] были представлены результаты исследований о распространенности различных групп аэробных микроорганизмов в определенных точках оз. Севан, а также на выходах подземных и грунтовых вод по берегам р. Дзкнагет. Однако экология и биологические особенности бациллярных микроорганизмов озера, артезианских и грунтовых вод его бассейна, в частности их экстремофильных форм, остаются слабоизученными.

Между тем исследование экстремофильных микроорганизмов является одной из важных задач современной экологической микробиологии [8, 9]. Это обусловлено, с одной стороны, необходимостью выявления механизмов адаптации клеток к жизни в экстремальных условиях, а с другой – большим биотехнологическим потенциалом экстремофильных микроорганизмов [8–10].

Представленная работа является продолжением наших исследований по микробиологии вод Севанского бассейна и посвящена изучению распространенности экстремофильных бацилл в его поверхностных и подземных водах.

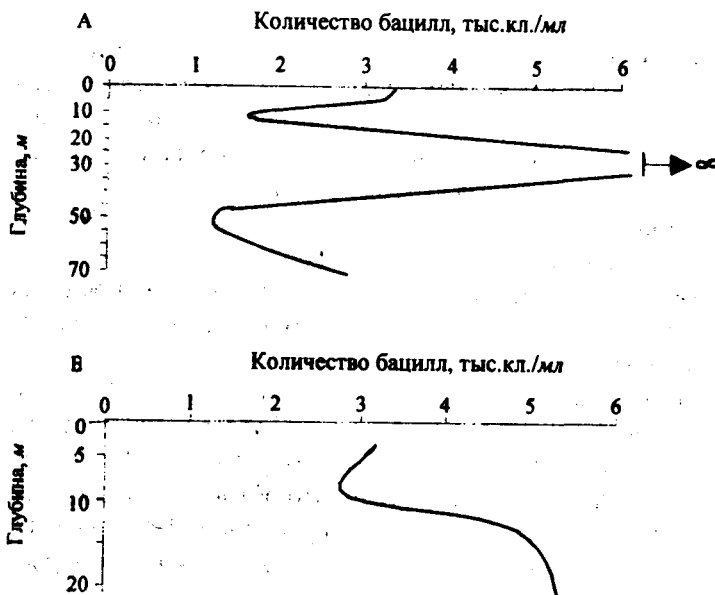
Материал и методика. Координаты участков отбора проб определяли прибором системы глобального позиционирования Garmin 12RX. Пробы воды и ила из разных глубин Севана и скважин отбирали батиметром SEBA 105/5C2.

Выделение аэробных гетеротрофных неспороносных и спороносных бактерий, в том числе экстремофильных форм бацилл осуществлялось путем получения накопительных культур. Для получения накопительных культур бацилл воду и водные смеси ила пастеризовали в течение 10 мин при 80°C в водяной бане [11]. Инкубацию проводили в конических колбах с 50 мл питательной среды на качалке (180 об/мин) с корректировкой условий в зависимости от особенностей изучаемой формы бактерий. Чистые культуры получали рассевом накопительных культур на соответствующие твердые среды. Аэробные гетеротрофные мезофильные культуры, как неспороносные, так и спороносные, выращивали на мясопептонном агаре (МПА) [12] при 37°C в течение 24 ч; термофильные – на пептонно-кукурузном агаре [13] при 56°C в течение 24 ч; алкалофильные – на среде Хорикоши [14] с начальным рН среды 9–10 при $30\text{--}37^{\circ}\text{C}$ в течение 2–5 суток; галофильные – на специальной среде [15] с содержанием 12% NaCl при 37°C в течение 2–5 суток; психрофилы – на рыбно-пептонном агаре при 10°C в течение 2–5 суток [16].

Количество клеток определяли высевом на плотные среды, используя чашечный метод Коха [12].

Результаты и обсуждения.

Исследования воды и ила оз. Севан. На рисунке приведены кривые, иллюстрирующие распределение бацилл по глубине в точках пробоотбора



(в Малом Севане координаты – $40^{\circ}35,150'\text{СШ}$; $45^{\circ}03,838'\text{ВД}$; в Большом Севане – $40^{\circ}23,191'\text{СШ}$; $45^{\circ}23,030'\text{ВД}$).

Как видно из рисунка, бациллы (они главным образом представлены мезофильными формами) определялись в пределах 1,4–5,4 тыс. кл./мл.

Сравнительно богаты бациллами пробы воды, отобранные в Большом Севане, особенно из глубин 10–20 м, где их численность доходила до 5,4 тыс. кл./мл.

Распределение бацилл по глубине в точках пробоотбора в Малом (А) и Большом (В) Севане.

Максимальное количество бацилл было обнаружено в Малом Севане на

глубине 30м, на других же глубинах их содержание по вертикали колебалось в пределах 1,4–3,4 тыс. кл./мл. Практически полностью эти бактерии представлены мезофильными формами, и содержание экстремофильных бацилл в исследованных образцах было незначительным.

Таблица 1

Наличие экстремофильных форм бацилл в образцах воды оз. Севан

Глубина, м	Экстремофильные формы бацилл			
	Т	А	Г	П
Малый Севан				
0	–	–	–	–
5	+	–	–	–
10	–	–	–	–
20	–	–	–	+
30	+	–	–	–
50	–	–	–	–
70	–	–	–	+
Большой Севан				
0	–	–	–	+
5	+	–	–	+
10	–	–	–	–
20	+	–	–	–

В таблицах 1–3: Т – термофилы, А – алкалофилы, Г – галофилы, П – психрофилы.

В таблице 1 обобщены результаты определения основных групп экстремофильных бацилл в образцах воды оз. Севан, взятых из разных глубин в тех же точках.

Поскольку в Малом Севане на глубине 30м температура воды не поднимается выше $9,4^{\circ}\text{C}$, а на больших глубинах – выше $7,8^{\circ}\text{C}$ (см. [7]), то в этих зонах могут присутствовать психрофильные микроорганизмы. Наши исследования выявили лишь небольшое количество психрофильных бацилл, однако вместе с ними присутствовало и не мало термофильных бацилл, которые могли быть занесены в озеро либо горячими источниками со дна, либо – из береговых крестьянских хозяйств.

Хотя в период наших исследований рН воды находился в пределах 8,5–9,1, алкалофильных бацилл в воде озера обнаружить не удалось. Не выявлены и галофильные бациллы.

Содержание гетеротрофных микроорганизмов (растущих на МПА) и наличие мезофильных и экстремофильных бацилл в отложениях ила оз. Севан представлены в табл. 2. Гетеротрофных микроорганизмов в иловых отложениях больше, чем в водной толще оз. Севан, что объясняется высоким содержанием в них органических веществ. Как видно из табл. 2, количество мезофильных бацилл также превосходило в иле. В пробах ила, отобранных со дна Большого Севана, общая численность аэробных гетеротрофных микроорганизмов колебалась от 2,4 до 3 млн. кл./мг. При этом число мезофильных бацилл доходило до 540 тыс. кл./мг ($\approx 18\%$).

Ил Малого Севана отличается сравнительно низкой биологической продукцией, что, по-видимому, обусловлено низкой температурой, кислород-

ным дефицитом и гипербарическими условиями. С глубиной численность мезофильных бацилл в иле сокращается и на глубине 70м падает до 40 тыс. кл./мг.

Таблица 2

Содержание аэробных гетеротрофных микроорганизмов и наличие мезофильных и экстремофильных бацилл в иле оз. Севан

Глубина, м	Гетеротрофные микроорганизмы, млн.кл./мл или мг (для ила)	Мезофильные бациллы, тыс. кл./мл или мг (для ила)	Экстремофильные формы бацилл			
			Т	А	Г	П
Малый Севан						
32 (ил)	1,42	110	++	-	-	+
37 (ил)	0,74	50	-	-	-	-
70 (иловая вода)	0,56	40	+	-	-	-
Большой Севан						
20 (иловая вода)	3,02	540	+++	+	-	-
28 (ил)	2,64	310	++	++	-	-
25-30 (ил)	2,62	520	+++	-	-	-
25 (ил)	2,4	480	-	-	-	-

При исследовании образцов ила с целью обнаружения экстремофильных бацилл были выявлены термофильные и алкалофильные формы. Их значительно больше в отложениях ила Большого Севана, что, возможно, связано с проявлением геохимических аномалий на дне озера [17].

Исследование артезианских и грунтовых вод у устья р. Дзкнагет. Для исследования подземных и грунтовых вод Севанского бассейна изучена бактериальная микрофлора артезианских и грунтовых вод из скважин, расположенных у устья р. Дзкнагет, а также рядом с ближним шоссе. Полученные данные представлены в табл. 3.

Исследование бактериопланктона в пробах артезианских и грунтовых вод бассейна озера показало, что по содержанию аэробных спорообразующих гетеротрофных бактерий грунтовые воды (табл. 3, скважины А и Б) близки к илу, отобранному со дна Большого Севана. Артезианские же воды по этому показателю значительно отличались от образцов, взятых из озера. Этот результат соответствует гидрогеологическим данным о существовании связи вод озера с грунтовыми водами и отсутствии таковой с артезианскими (или, по крайней мере, незначительной связи) [18].

Наиболее богаты аэробными гетеротрофными бактериями пробы, отобранные из скважин А и Б. Количество бактерий в этих образцах доходило до 1,4 млн. кл./мг. На этом фоне число мезофильных бацилл в среднем составляло 0,5 млн. кл./мл.

Из проб, отобранных из скважин № 7, А и Б, выделены алкалофильные бациллы. Источником галофильных и термофильных бацилл служили скважины №№ 1, 3, 5, 7. Это обстоятельство вызывает удивление, так как рН воды в скважинах №№ 1, 3, 5 был нейтральным (7,0-7,71) и лишь в скважине № 7 вода давала слабощелочную реакцию (9,4).

Таблица 3

Количество аэробных гетеротрофных микроорганизмов и наличие мезофильных и экстремофильных бацилл в образцах артезианских и грунтовых вод бассейна оз. Севан

Скважины, №*	Глубина, м, субстрат	Количество гетеротрофных микроорганизмов, тыс. кл./мл	Численность мезофильных бацилл, тыс. кл./мл	Экстремофильные формы бацилл			
				Т	А	Г	П
1	1; вода	∞	–	+	–	–	–
2	0,2; вода	27	2,16	–	–	–	–
3	3; вода	∞	–	+	–	–	+
4	4; вода	3	0,23	–	–	–	–
5	0,2; вода	11,5	0,947	+	–	+	–
6	0,2; вода	7	0,31	–	–	–	+
7	3; иловая вода	1,5	0,18	+	+	+	–
А	12; иловая вода	1074	483	+	+	–	–
Б	75; иловая вода	1488	699	+	+	+	–

* 1–7 – скважины у устья р. Дззнагет; А, Б – скважины рядом с шоссе (координаты: 40° 32,647'СШ и Е 44° 58,202'ВД).

В результате проведенных работ выделены 24 культуры экстремофильных аэробных спорообразующих бактерий, в том числе 15 термофильных, 6 алкалофильных, 3 галофильных. Выделенные культуры экстремофильных бацилл сохраняются в коллекции культур микроорганизмов кафедры микробиологии и биотехнологии микроорганизмов и растений ЕГУ и научно-исследовательской компании «Геориск», они послужат объектом дальнейших исследований с целью их идентификации и изучения возможностей использования в биотехнологических процессах.

Кафедра микробиологии, биотехнологии
микроорганизмов и растений

Поступила 23.09.2004

ЛИТЕРАТУРА

1. Wetzel R.G. Limnology: Lake and River Ecosystems. III edition. San Diego and London: Academic Press, 2001.
2. Гамбарян М.Е. Микробиологические исследования оз. Севан. Ер.: Изд-во АН Арм. ССР, 1968.
3. Тифенбах О.И. – Микробиология, 1982, т. 51, № 4, с. 664–668.
4. Варданян Г.С. Видовой состав и количественное распределение бактериальной и грибной флоры оз. Севан и впадающих в него рек: Автореф. дис. на соискание уч. степ. канд. биол. наук. Институт микробиологии НАН РА, Абовян, 1988.
5. Karakhanian A., Tozalakyan P., Grillot J.C., Philip H., Melkonyan D., Paronyan R., Arakelyan S. – Environmental Geology, 2001, v. 40, № 3, p. 279–288.
6. Мусаелян С.М. Экология и экономика оз. Севан и его бассейна. Ер.: Изд-во ЕГУ, 1993.
7. Паносян О.А., Тозалакян П.В., Агаджанян Дж.А., Попов Ю.Г. – Ученые записки ЕГУ, 2002, № 2, с. 116–120.
8. Vargnam A.H., Evans M.G. Environmental Microbiology. London: Manson Publishing Ltd, 2000.
9. Жизнь микробов в экстремальных условиях. Под ред. Д. Кашнера. М.: Мир, 1981.
10. Nicolaus B., Panico A., Manca M.C., Lama L., Gambacorta A., Maugeri T., Gugliandolo C., Saccamo D. – System. Appl. Microbiol., 2000, v. 23, № 3, p. 426–432.

11. Смайберг Р., Криг Н. Методы общей бактериологии. Под ред. Ф. Герхардта и др. М.: Мир, 1984, т. 3, с. 8-98.
12. Егоров Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1983.
13. Логинова Л.Г., Головачева Р.С., Егорова Л.А. Жизнь микроорганизмов при высоких температурах. М.: Наука, 1966.
14. Horikoshi K., Akiba T. Alkalophilic Microorganisms: A New Microbial Word. Tokyo, Berlin, Heidelberg, New York: Jpn. Sci. Press, Springer-Verlag, 1982.
15. Larsen H. The procaryotes: A Handbook of Habitats, Isolation and Identification of Bacteria. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 1981.
16. Каталог культур микроорганизмов. Республиканский центр депонирования микробов (РЦДМ). Под ред. Э.Г. Африкяна, А.А. Хачатуряна. Ер.: Гитутюн НАН Армении, 1996.
17. Геология Севана. Под ред. М.А. Сатиана, Г.В. Чилингаряна. Ер.: Изд-во Ин-та геолог. наук НАН РА, 1994.
18. Bodoyan A. Compartement hydraulique d'un grand bassin artésien (lac Sevan) traverse par une faille active plurikilometrique (Armenia): These doctorale specialite hydrogeologie. - Universite Montpellier II, Montpellier, France, 1999.

Հ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ, Պ. Վ. ԹՈՋԱԼԱԿՅԱՆ, ՅՄ. Գ. ՊՈՊՈՎ

ՄԵՎԱՆԱ ԼՃԻ ԱՎԱԶԱՆԻ ԶՐԵՐՈՒՄ Է ՔՍՏՐԵՄՈՖԻԼ ԲԱՑԻԼՆԵՐԻ
ՏԱՐԱԾՎԱԾՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ամփոփում

Հետազոտվել է մեզոֆիլ և էքստրեմոֆիլ մանրէների տարածվածությունը Սևանա լճի ջրում և տիղմում, ինչպես նաև Զկնագետի գետաբերանում գտնվող արտեզյան և գրունտային ջրերում: Անջատվել են էքստրեմոֆիլ բացիլների նոր կուլտուրաներ, այդ թվում՝ թերմոֆիլներ, ալկալոֆիլներ, հալոֆիլներ և պսիխրոֆիլներ:

H. H. PANOSYAN, P. V. TOZALAKYAN, Yu. G. POPOV

DISTRIBUTION OF EXTREMOPHILIC BACILLI IN WATERS OF LAKE
SEVAN BASIN

Summary

The distribution of mesophilic and extremophilic bacilli in Lake Sevan water and silt, as well as in artesian and subsoil waters from boreholes at the Dzknaget river estuary was studied. New cultures of extremophilic bacilli, including thermophilic, alcalophilic, halophilic and psychrophilic forms, were isolated.