Распространение бактерий различных эколого-трофических групп в холодных углекислых минеральных водах месторождения Мухен (Дальний Восток)

Лебедева Е.Г., Харитонов Н.А., Брагин И.В.

ФГБУН Дальневосточный геологический институт ДВО РАН, Владивосток, Россия, E-mail: microbiol@mail.ru

АННОТАЦИЯ: Изучено распространение бактерий различных эколого-трофических групп в минеральных углекислых водах Мухен. Показано присутствие небольшого количества физиологических групп и их низкая численность. В минеральных водах наибольшей численности достигали тионовые бактерии и микроорганизмы цикла азота, что указывает на преобладание в подземных водах процессов окисления восстановленных соединений серы и азота. В минеральных водах отмечены также очень низкие количества гетеротрофных сапрофитных бактерий, что свидетельствует о низком содержании органических веществ. Среди гетеротрофов преобладали палочковидные каталазоположительные бактерии рода *Bacillus* sp.

Spread of bacteria of various ecological and trophic groups in cold carbonic mineral waters of the Muchen deposit (Far East)

Lebedeva E.G., Kharitonova N.A., Bragin I.V.

Far Eastern Geological Institute FEB RAS, Vladivostok, Russia, E-mail: microbiol@mail.ru

ABSTRACT: The distribution of bacteria of various ecological and trophic groups in the mineral carbonic waters of Muchen was studied. The presence of a small number of physiological groups and their low numbers was shown. In mineral waters, thionic bacteria and microorganisms of the nitrogen cycle reached the highest numbers, which indicates the predominance of oxidation processes of reduced sulfur and nitrogen compounds in groundwater. In mineral waters, very low numbers of heterotrophic saprophytic bacteria are also noted, which indicates a low content of organic substances. Among the heterotrophs, rod-shaped catalase-positive bacteria of the genus *Bacillus* sp.

ВВЕДЕНИЕ

Подземные минеральные воды являются сложными многофазными системами, содержащими в растворенном виде различное количество химических, органических веществ и газов. Они обладают уникальным составом и целебными свойствами, что находит применение в лечении различных заболеваний. Углекислые минеральные воды - это уникальные и ценные гидроминеральные ресурсы, оказывающие лечебное воздействие на организм человека. По разнообразию типов и свойств минеральных вод Дальний Восток не уступает многим известным гидроминеральным районам Центральной Европы, Кавказа, Прибайкалья [7]. Известно, что важной составляющей минеральных вод являются микроорганизмы. Работы последних лет показывают, что микробиологические процессы активно изменяют гидрогеохимическую систему и частично преобразовывают физико-химические свойства подземных вод и пористое пространство водовмещающих пород [1-2]. Наиболее важными биохимическими процессами, протекающими в подземных водах с участием микроорганизмов, являются биогенная генерация CO₂, сульфатредукция, нитрификация и денитрификация. Поскольку минеральные воды активно используются в бальнеологических целях, необходимо не только исследовать химический состав минеральных вод, но

также проводить микробиологический мониторинг вод с целью выявления естественной и болезнетворной микрофлоры. Однако в настоящее время отсутствуют данные о распространении бактерий в углекислых минеральных водах месторождения Мухен. В связи с этим, целью работы было изучить распространение, состав и численность бактерий различных эколого-трофических групп в холодных углекислых минеральных водах месторождения Мухен.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования выбрано месторождение холодных углекислых минеральных вод Мухен (Пунчинский участок), которое расположено в районе им. Лаза Хабаровского края в бассейне р.Непту на нижней части левого склона долины р.Пунчи притока р. Мухен в 100 км к востоку от г. Хабаровска, в 30 км от п. Мухен. Углекислые минеральные воды Мухен залегают в грубообломочных континентальных олигоцен-миоценовых отложениях на глубине ~100 м. Отложения перекрыты мощным слоем базальтов – водоупором. Углекислые воды Мухен невысокой солёности, всего 0,35–0,54 г/л, pH 5,3–5,9, по составу HCO₃–Ca–Mg [7]. Пробы минеральных вод отбирали из самоизливающейся скважины №3 в условиях стерильности в стеклянные бутылки объемом 1500 мл в трех повторностях. Отбор проб осуществляли в

июне 2018 года. Пробы воды до лаборатории хранили в холодильнике не более суток. Нестабильные показатели химического состава (рН, минерализация и температура) измерялись непосредственно на месте. Водные пробы фильтровались через целлюлозный фильтр, с размером пор 0,45 мкм, и собирались в пластиковые пробирки. Для выявления и культивирования различных групп бактерий использовали традиционные методы практической микробиологии [4]. Численность различных эколого-трофических групп бактерий определяли методом предельных разведений и методом Коха [6]. Для определения наиболее вероятного числа клеток бактерий использовали таблицу МакКреди. Количество различных эколого-трофических групп бактерий определяли на специально подобранных селективных средах [3]. Для подземных вод с целью концентрирования бактерий производили фильтрацию 10-20 мл подземных вод на мембранные фильтры (0,2 мкм, 47 мм диаметр) с последующим их наложением на различные селективные среды. Бактерии выращивали в термостате при температуре 25 °С. Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) определяли методом посева на мясо-пептонный агар, со сроком инкубации 48–72 ч, при температуре 30 °С. Определение общих колиформных бактерий (ОКБ) проводили согласно МР № 96/225-1997 методом мембранной фильтрации 100 мл минеральной воды [5]. Количество анаэробных форм бактерий определяли культивированием в анаэроостате с использованием газогенерирующих пакетов BD GasPak EZ при температуре 25 °С.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные ранее исследования химического состава минеральных углекислых вод Мухен показали, что подземные воды характеризовались низкой температурой 10⁰ С, рН вод составляло 5,3-5,9. В составе анионов преобладали гидрокарбонат (229-296 мг/л) и сульфат ион (2,0-15,2 мг/л), в составе катионов преобладали Са (20-36 мг/л) и Mg (19-26 мг/л). В газовом составе вод отмечены углекислый газ (99,3-99,5 %), азот (0,39-0,64%) и кислород (0,09-0,12 %) [7].

Результаты микробиологических исследований показали, что в подземных углекислых минеральных водах месторождения Мухен распространены бактерии различных эколого-трофических групп, которые характеризовались достаточно низкой численностью и небольшим составом функциональных групп микроорганизмов. Общее число сапрофитных гетеро-

трофных бактерий, осуществляющих деструкцию органических веществ в минеральных водах составляло 0,1×10¹ - 0,4×10² КОЕ/мл и было очень низким, что свидетельствует о низком содержании органических веществ в минеральных водах.

При этом количество анаэробных форм сапрофитных бактерий значительно превышало число аэробных бактерий (табл. 1). Сапрофитные бактерии, выделенные из минеральных вод на среде УК формировали крупные и мелкие матовые светло-бежевые колонии (рис. 1). Микроскопирование колоний и их анализ выявил присутствие подвижных каталазоположительных крупных палочек, предположительно относящихся к роду *Bacillus* sp.

Количество бактерий в подземных водах варьировало от 0 до 1,0×10³ кл/мл (табл. 1). Значительно преобладали в подземных водах хемолитотрофные тионовые бактерии (1,0×10³ кл/мл) и микроорганизмы геохимического цикла азота, особенно гетеротрофные нитрифицирующие (5,3×10² КОЕ/мл), аммонифицирующие уробактерии (3,2×10² КОЕ/мл) и азотфиксирующие микроорганизмы (2,5×10² КОЕ/мл) (табл. 1).

Таблица 1. Состав и численность бактерий различных эколого-трофических групп в подземных минеральных углекислых водах месторождения Мухен

Физиологические группы бактерий:	
КМАФАнМ, 30 ⁰ С КОЕ/мл	0
Общие колиформные бактерии, 37 ⁰ С, КОЕ/100 мл	0
Сапрофитные бактерии, аэробы КОЕ/20 мл	0,1×10 ¹
Сапрофитные бактерии, анаэробы КОЕ/20 мл	0,4×10 ²
Олиготрофные бактерии, аэробы КОЕ/20 мл	0
Целлюлозоразлагающие бактерии кл/мл	0
Азотфиксирующие КОЕ/ мл	2,5×10 ²
Аммонификаторы КОЕ/ мл	3,2×10 ²
Автотрофные нитрификаторы кл/мл	0
Гетеротрофные нитрификаторы КОЕ/мл	5,3×10 ²
Денитрифицирующие кл/мл	0,4×10 ²
Тионовые кл/мл	1,0×10 ³
Сульфатредуцирующие кл/мл	0
Железоокисляющие автотрофы кл/мл	0
Железоокисляющие гетеротрофы КОЕ/10 мл	0
Марганецоокисляющие гетеротрофы КОЕ/10 мл	0
Железовосстанавливающие КОЕ/30 мл	0
Марганцевосстанавливающие КОЕ/30 мл	0
Силикатные бактерии КОЕ/10 мл	0

Тионовые бактерии в анаэробных условиях способны окислять восстановленные соединения серы до элементарной серы с дальнейшим

образованием серной кислоты. Наиболее высокая численность тионовых бактерий отмечена в минеральных углекислых водах возможно связана с активной переработкой сульфидных минералов, которые присутствуют в достаточном количестве в водовмещающих породах месторождения. Доминирующее развитие бактерий цикла азота указывает на происходящие в подземных водах биогенных процессах окисления соединений азота с участием бактерий. Общие колиформные бактерии, являющие показателем фекального загрязнения, в 100 мл воды отмечены не были, что указывает на чистоту вод.

Рис. 1. Внешний вид колоний сапрофитных гетеротрофных бактерий, выделенных из минеральных углекислых вод месторождения Мухен (а- аэробы, б-анаэробы)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования распространения бактерий в месторождении углекислых минеральных вод Мухен выявили присутствие в них различных физиологических групп микроорганизмов, которые способны преобразовывать физико-химический состав минеральных вод, участвуя в геохимических циклах. Наибольшей численности в минеральных водах достигали тионовые бактерии и микроорганизмы геохимического цикла азота, что указывает на происходящие в подземных водах биогенных процессах окисления восстановленных соединений серы и азота с участием микроорганизмов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Калитина Е.Г. Харитонов Н.А., Челноков Г.А., Вах Е.А. Микробиологический состав углекислых минеральных вод Приморского края (распространение, численность бактерий, условия их обитания) // Вестник ДВО РАН. – 2015. – №5. – С. 53-62.
2. Копылова Ю. Г., Наливайко Н. Г., Аракчаа К. Д., Гусева Н.В., Хвощевская А.А., Шестакова А.В. Состав микрофлоры геохимического цикла углерода в углекислых водах природного комплекса Чойган (Тыва) // Курортная база и природные лечебно-оздоровительные местности Тувы и сопредельных регионов. – 2015. – № 2. – С. 66-80.
3. Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов. – М.: Наука, 1989. – 228 с.
4. Лысак В.В., Желдакова Р.А., Фомина О.В. Микробиология: практикум. – Минск: БГУ, 2015. – }115 с.
5. Методические рекомендации № 96/225. Контроль качества и безопасности минеральных вод по химическим и микробиологическим показателям. – Введ. 1997-04-07. – М.: Минздрав России, 1997. – 18 с.
6. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / под ред. Н. С. Егорова. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – 224 с.
7. Харитонов Н.А., Шварцев С.Л., Лепокурова О.Е., Челноков Г.А. Уникальные углекислые минеральные воды месторождения Мухен (Хабаровский край) // Доклады академии наук – Т.475. № 6. – 2017. С. 685-690.