

На правах рукописи

Дармаева Бальжима Витальевна

**САНИТАРНО-ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА
МИНЕРАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ ПРИБАЙКАЛЬЯ
ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ**

03.00.16 – экология
03.00.07 – микробиология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Улан-Удэ, 2007

Работа выполнена в Федеральном государственном учреждении здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Бурятия»

Научный руководитель: кандидат биологических наук
Бархутова Дарима Дондоковна

Научный консультант: доктор биологических наук, профессор
Намсараев Баир Бадмабазарович

Официальные
оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Пронина Светлана Васильевна

кандидат биологических наук
Матюгина Евгения Борисовна

Ведущая организация: Читинская государственная медицинская
академия

Защита диссертации состоится «16» мая 2007 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.022.03 в Бурятском государственном университете по адресу: 670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а, биолого-географический факультет, конференц-зал
Факс: (3012)211593, e-mail: d21202203@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Бурятского государственного университета

Автореферат разослан « ____ » _____ 2007 года.

Ученый секретарь
Диссертационного совета
кандидат биологических наук

Н.А. Шорноева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Минеральные источники являются местами активной деятельности микроорганизмов, которые участвуют в продукции и деструкции органического вещества, трансформации газов, образовании биологически активных веществ. Огромно их значение в создании лечебного фактора минеральных вод и в процессах самоочищения. Микроорганизмы различных физиологических групп выступают в роли индикаторов состояния окружающей среды.

По количеству и разнообразию минеральных вод Республика Бурятия стоит в одном ряду с крупными курортными зонами России. В последние десять лет активно проводятся микробиологические исследования холодных и горячих источников Байкальского региона. В настоящее время изучено разнообразие микробных сообществ и их функционирование в гидротермах на территории Бурятии в Байкальской рифтовой зоне (Горленко и др., 1988-1992; Намсараев и др., 1994, 1995; Брянская, 2006) и холодных сероводородных водах. Определены скорости продукционных и деструкционных процессов в воде, донных осадках и микробных матах. Показано, что наиболее интенсивно процессы продукции органического вещества протекают в циано-бактериальных матах, а деструкции – в донных осадках гидротерм (Намсараев и др., 2006).

Возрастающее антропогенное воздействие на минеральные источники в связи с их широким использованием местным населением для лечения и отдыха и создающаяся особая зона туристско-рекреационного типа в Байкальском регионе делает актуальной оценку качества воды и донных осадков в минеральных источниках.

Цели и задачи исследования.

Целью данной работы было выявление и учёт индикаторных микроорганизмов для санитарно-экологической оценки холодных и термальных минеральных источников Прибайкалья.

Для достижения поставленной цели были определены и последовательно решались следующие задачи:

1. Определение численности индикаторных микроорганизмов (сапрофитных бактерий и общих колиформных бактерий) в воде, донных осадках и микробных матах горячих и холодных источников Прибайкалья.
2. Определение численности колифагов.
3. Выделение колиформных бактерий и определение их видового состава.
4. Изучение выживаемости *Escherichia coli* в воде, донных осадках и микробных матах.
5. Оценка качества минеральных вод по микробиологическим показателям.

6. Определение физико-химических условий среды обитания микроорганизмов.

Научная новизна. Впервые проведена санитарно-микробиологическая оценка холодных и горячих источников Прибайкалья с определением общего количества сапрофитных бактерий, общих колиформных и термотолерантных бактерий, колифагов, патогенных энтеробактерий, стафилококков и сульфитредуцирующих кластридий. Выявлены и описаны сезонные особенности микробиологического загрязнения воды в минеральных источниках. Выявлено широкое распространение условно-патогенных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*. Изучена выживаемость индикаторного (санитарно-показательного) микроорганизма *Escherichia coli* в воде, донных осадках и микробных матах. Установлено отсутствие бактериальных вирусов (колифагов) и патогенных микроорганизмов, что позволяет оценить качество минеральных вод как эпидемически безопасное.

Впервые дана гидрохимическая и микробиологическая характеристика холодных источников (аршанов) Серебряный и Кумыска в местности Верхняя Березовка г. Улан-Удэ.

Практическая ценность. Полученные результаты санитарно-микробиологических и физико-химических анализов могут быть использованы для бальнеологической характеристики минеральных вод Прибайкалья и составления кадастра минеральных источников Бурятии. Полученные результаты могут быть положены в основу информационной базы для принятия решений по реализации природоохранных мероприятий, направленных на снижение уровня загрязнения водных объектов.

Апробация работы. Результаты исследований были представлены и обсуждены на Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора Е. В. Талалаева (Иркутск, 2002), VI Международной научной конференции студентов и молодых учёных «Экология Южной Сибири и сопредельных территорий» (Абакан, 2002), Всероссийской конференции с международным участием «Биоразнообразие экосистем Внутренней Азии» (Улан-Удэ, 2006).

Публикации: по материалам диссертации опубликовано 5 работ.

Структура и объём работы: Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на ___ страницах машинописного текста, включая ___ таблиц и ___ рисунков. Список литературы содержит ___ отечественных и иностранных наименований.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Объекты и методы исследования

Объектами исследований являлись щелочные гидротермы Баргузинской долины Горячинск, Уро, Сея, Гарга, Алла, Умхей, Сухая, Кучигер и Гусиха и холодные источники (аршаны) в окрестностях г. Улан-Удэ Серебряный и Кумыска (табл. 1).

Таблица 1

Местоположение и физико-химическая характеристика гидротерм Прибайкалья

Источники	Местоположение	Т°С	pH	Минерализация
Горячинск	Побережье оз. Байкал	45- 52	8,95	0,20-0,56
Гарга	Икатский хребет	39,6-72,5	8,2-8,5	0,15-0,30
Сея	Долина реки Баргузин	33,4- 50,3	9,7	0,25-0,35
Уро	Икатский хребет	47,6-69,9	8,6-9,1	0,50-0,55
Алла	Баргузинский хребет	24,0-76,2	9,7	0,15-0,40
Умхей	Долина реки Баргузин	41,7- 47,6	9,0-9,1	0,42-0,60
Кучигер	Баргузинский хребет	43,0- 47,2	8,2-9,1	0,60-0,80
Гусиха	Река Малая Гусиха	45- 62	8,25	0,93-0,97
Серебряный	Верхняя Березовка	2 - 4	7,2	0,23-0,45
Кумыска	Верхняя Березовка	2 - 4	7,0	0,40-0,64
Сухая	Побережье оз. Байкал	47-48	9,0	0,55

Методы исследования. Для проведения микробиологических и гидрохимических исследований пробы отбирались в термальных источниках - ежеквартально, в холодных – ежемесячно. Определение индикаторных микроорганизмов было проведено по краткой схеме в летних пробах воды источников Уро, Сея, Гарга, Алла, Умхей, Сухая, Кучигер и Гусиха. В рамках полных комплексных схем микробиологические анализы были проведены в гидротерме Горячинск и холодных аршанах Кумыска и Серебряный (табл. 2).

Таблица 2

Схема выявления индикаторных микроорганизмов

Краткая схема (вода)	Полная схема (вода)	Полная схема (донные осадки и микробные маты)
Сапрофиты	Сапрофиты	Сапрофиты
Общие колиформные бактерии	Общие колиформные бактерии	Общие колиформные бактерии
Термотолерантные колиформные бактерии (<i>E.coli</i>)	Термотолерантные колиформные бактерии (<i>E.coli</i>)	Термотолерантные колиформные бактерии (<i>E.coli</i>)
	Колифаги	Сульфатредуцирующие кластридии (<i>Cl. Perfringens</i>)
	Патогенные энтеробактерии	Патогенная кокковая микрофлора (<i>Staphylococcus aureus</i>)
	<i>Ps. aeruginosa</i>	

Микробиологические показатели. Сапрофитные бактерии (МАФАН-мезофильные аэробы и факультативные анаэробы) в воде определялись методом посева на мясо-пептонный агар, со сроком инкубации 48-72 ч, при температуре 30°C (МУ № 96/225-1997).

Сапрофиты в донных осадках и микробных матах определяли согласно Методическим указаниям санитарно-микробиологического анализа лечебных грязей (МУ МЗ СССР №143-9/316-17-1985).

Определение общих колиформных (ОКБ) и термотолерантных колиформных бактерий (ТКБ) в воде проводилось мембранным и титрационным методами при 37°C в течение 24 ч и пересевом в среду Гисса с лактозой (инкубация 24 ч, температура 37°C). Количество ОКБ и ТКБ в воде выражали через коли-индекс. Исследование общих колиформных бактерий в донных осадках и микробных матах проводилось согласно МУ МЗ СССР №143-9/316-17. Количество ОКБ определяли бродильным методом и выражали через коли-титр. В целях идентификации и дифференциации микробных культур изучали биохимические свойства с применением систем индикаторных бумажек (СИБ). Видовое разнообразие энтеробактерий определяли по определителям бактерий Берджи (1997).

Определение титра *Clostridium perfringens* в донных осадках и микробных матах производили методом посева в среду Вильсон-Блера и инкубации при 45°C в течении 16-18 ч с дальнейшей идентификацией в молочной среде (МУ МЗ СССР №143-9/316-17).

Определение колифагов проводили титрационным методом с предварительном их накоплением в среде обогащения на культуре *E.coli*.

Определение *Pseudomonas aeruginosa* проводили на плотной селективно-дифференциальной среде Эндо, с предварительным накоплением их в жидкой лактозо-пептонной среде (МУ № 96/225-1997)

Определение патогенных стафилококков проводили методом высева на желточно-солевой и кровяной агары и сахарный бульон с дальнейшей инкубацией при температуре 37°C в течении 48 ч.

Определение патогенных энтеробактерий проводили методом предварительного обогащения на селенитовой и магниевой средах с последующим высевам на висмут-сульфит агар и плотные среды Плоскирева и Левина (МУК 4.2. 1884-04)

Определение цист патогенных кишечных простейших проводили методом фильтрации 50 л воды через мембранный фильтр и с дальнейшей идентификацией согласно МУК 4. 2. 964-00 и Сан Пин 2.1.5.980-00.

Физико-химические показатели. Кислотность среды (рН) определяли потенциметрическим портативным рН-метром рНер (Португалия). Значения общей минерализации получено при помощи портативного тестер-кондуктометра TDS-4 (Сингапур). Температуру воды

измеряли сенсорным электротермометром Prima (Португалия) Методы определения гидрохимических показателей представлены в таблице 3.

Таблица 3

Методы исследования гидрохимических показателей качества минеральной воды

Ингредиент	Метод	Нормативный документ
рН	ионометрический	-
Общая минерализация	Расчётный	-
Гидрокарбонаты	титрометрический	ГОСТ 23268.3-78
Сульфаты	колориметрический	ГОСТ 23268.4-78
Хлориды	титрометрический	ГОСТ 23268.17-78
Нитраты	колориметрический	ГОСТ 23268.9-78
Нитриты	колориметрический	ГОСТ 23268.8-78
Фториды	колориметрический	ГОСТ 23268.18-78
Магний	колориметрический	ГОСТ 23268.5-78
Окисляемость	титрометрический	ГОСТ 23268.12-78
Калий	расчётный	ГОСТ 23268.7-78
Натрий	расчётный	ГОСТ 23268.6-78
Кальций	колориметрический	ГОСТ 23268.5-78
Железо	титрометрический	ГОСТ 23268.11-78
Аммоний	колориметрический	ГОСТ 23268.10-78

Статистическая обработка материалов проводилась по стандартной программе EXCEL (пакет программ Windows).

2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

2.1. Индикаторные микроорганизмы в воде гидротерм Баргузинской долины

Санитарно-микробиологические анализы были проведены в летних пробах минеральных вод. Температура воды на выходах гидротерм варьировала от 43 до 76,2°C. Наиболее высокотемпературными были источники Алла (76,2°C), Гарга (72,5°C) и Уро (69,9°C). Вода гидротерм имела щелочную реакцию, значение рН варьировало от 8,2 до 9,7 (табл. 4).

Количество сапрофитных бактерий в горячих источниках варьировало от 72 до 9200 КОЕ/мл. Наименьшая численность выявлена в источнике Сухая и наибольшая - в источнике Кучигер. В водах горячего источника были обнаружены общие колиформные бактерии. В воде гидротермы Сея коли-индекс составил 1100. В ручье источника Сухая коли-индекс достигал значения 1100, Кучигер - 43. Полученные данные показывают, что эти минеральные источники наиболее подвержены антропогенному воздействию.

Таблица 4

**Распространение индикаторных микроорганизмов
в минеральных источниках Прибайкалья**

Объекты	T , °C	сапрофиты, КОЕ/мл	ОКБ, коли- индекс
Сея-01(озеро)	4 9,8	$7 \cdot 10^3$	0
Сея-01-2 (ручей)	4 3	$2,25 \cdot 10^3$	0
Сея-01-3 (ручей)	4 2	$1,75 \cdot 10^2$	0
Сея-01-4 (ручей)	3 9	$1,8 \cdot 10^2$	0
Сея-01-5 (ручей)	3 6,8	$1 \cdot 10^2$	0
Сея-01-6 (ручей)	3 3,4	$1,5 \cdot 10^2$	1100
Гарга	7 2,5	$7,5 \cdot 10^1 - 2,5 \cdot 10^2$	0
Уро-2-4 (ручей)	4 9,4	$8,5 \cdot 10^3$	0
Уро-2-8 (ручей)	4 7,4	$5 \cdot 10^3$	0
Уро (ручей)	6 9,9	$4 \cdot 10^2$	0
Гусиха	4 7,5	$1,6 \cdot 10^2$	0
Сухая (начало ручья)	4 3	$1,55 \cdot 10^2$	1100
Сухая (конец ручья)	4 1	$2,45 \cdot 10^2$	1100
Сухая (после ванны)	3 6	$7,2 \cdot 10^1$	0
Умхей июнь(ручей)	4 5	$3,1 \cdot 10^2$	0
Умхей(ручей)	4 3	$4,6 \cdot 10^2$	0
Сея	4 9	$1,9 \cdot 10^2$	0
Алла	7 6,2	$2,4 \cdot 10^1$	0
Кучигер 01-1	4 3	$6,0 \cdot 10^2$	0
Кучигер 01-3	4 1	$9,2 \cdot 10^3$	43

Здесь и далее «0»- бактерии не обнаружены

2.2. Гидрохимические показатели гидротермы Горячинск

Исследования в термальном источнике Горячинск проводились в июне, августе, октябре 2005 г., феврале и мае 2006 г.

Пробы минеральной воды, илов и матов были отобраны на 9 станциях: при выходе воды на поверхность на территории курортного комплекса и в ручье по их изливу на протяжении 2000 м до места смешения тёплых минеральных вод с холодными пресными водами оз. Байкал (табл. 5). Максимальная температура воды на выходе источника (ст-1а) 52°С была отмечена зимой. Далее, вниз по ручью наблюдалось постепенное понижение температуры до 14-20°С летом и 9°С осенью. Значение рН варьировало от 6,7 до 8,95, минерализация воды изменялась от 201 до 569 мг/дм³. Вода источника Горячинск является сульфатно-карбонатной натриевой. Также наблюдалось изменение количества карбонатных и сульфатных ионов в зависимости от сезона и места отбора проб. Заметно изменялся ионный состав в летний период исследований. На ст. 4 количество карбонатов, сульфатов и хлоридов в ионе было выше, чем на других станциях. В отдельных пробах воды определялось количество различных форм N. Концентрация нитрат-ионов достигала значений 6,35 мг/дм³, нитрит-ионы не превышали 0,02 мг/дм³. Количество ионов аммония было равно 0,053-0,22 мг/дм³. Перманганатная окисляемость в воде варьировали от 0,16 до 15,4 мг/дм³.

Таблица 5

Физико-химическая характеристика источника Горячинск

Станция	Описание точек отбора	Минерализация, мг/дм ³	Т, °С	рН воды	Окисляемость, мг/ дм ³
Ст.1а	Выход у деревянного павильона (0 м)	474,5	51,1 - 52	8,6 - 8,95	0,16 - 1,92
Ст. 2	ручей рядом с беседкой (5 м)	-	49 - 51	8,3 - 8,7	-
Ст. 2а	фонтан питьевой	-	50 - 51	8,3 - 8,5	1,76
Ст. 3а	Ручей до скамейки (20 м)	-	44 -47,6	8,4 - 8,72	-
Ст. 3б	Ручей после скамейки (22 м)	514,8 - 569,8	40 - 47	8,3 - 8,7	0,16 - ,24
Ст. 4	Пруд (172 м)	395,9 - 511,27	7 - 22	6,8 – 7,43	1,36 - 3,36
Ст. 5а	Ручей до очист. сооруж. (472 м)	-	14 - 25	7,0	-
Ст. 5б	Ручей после очист. сооруж. (479 м)	-	14 - 24	7,0	-
Ст. 6а	Ручей (пляж) (1990 м)	396,97 - 398,1	11 - 21	6,92 - 7,0	3,52 - 15,4
Ст. 6б	Место впадения в оз. Байкал (2000 м)	201,0 - 286,3	9-20	7,1 - 7,8	1,12 - 7,68

Здесь и далее «-» не определяли

2.3. Сапрофитные бактерии в воде гидротермы Горячинск

Общая численность сапрофитов в воде при температуре инкубации

30°C в период исследований варьировала от 10 до 22000 КОЕ/мл (рис. 1). При этом количество сапрофитных бактерий на выходе (ст.1а) и в питьевом фонтанчике (ст. 2а) было низким в течение всего периода исследования и этот показатель соответствовал санитарным нормам (не превышал 100 КОЕ /мл).

Далее по ручью численность сапрофитных бактерий возрастала и всегда была выше в воде на 2-3 порядка, чем в выходах источника. Динамика численности сапрофитов по сезонам года показала, что их количество возрастает в весенне-летний период. Максимальная их численность 22000 КОЕ/мл была выявлена в мае в ручье на ст. 6а. В этом же месяце численность сапрофитных бактерий на ст. 3б составляла 19000 КОЕ/мл. Высокими были численности сапрофитов в июне и достигали значений 11000 и 12000 КОЕ/мл в ручье на ст. 3а и 5а соответственно. Осенью и зимой численность сапрофитных бактерий в воде не превышала 780 КОЕ/мл.

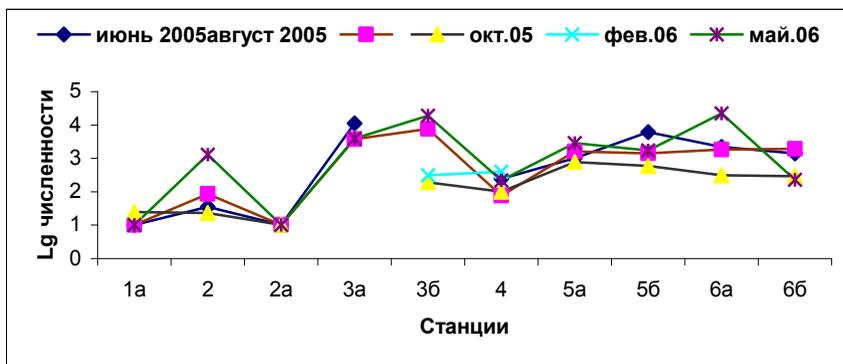


Рис. 1. Сезонная динамика численности сапрофитов (30°C).

Распределение сапрофитных бактерий в сезонном разрезе по отдельным станциям можно характеризовать как динамичное (табл. 6). Значительное варьирование численности сапрофитных бактерий относительно среднего свидетельствует о поступлении органических загрязнителей в воды по ручью.

Таблица 6

Изменение численности сапрофитных бактерий в воде по ручью в гидротерме

Горячинск

Станция	T, С	КОЕ/мл
Ст. 1	51,1 - 52	<u>10-25</u> 13
Ст. 2	49 - 51	<u>23-1300</u> 361
Ст. 2а	50 - 51	<u>10-10</u> <u>10</u>

Ст. 3а	44 - 47,6	<u>3700-11000</u> 4800
Ст. 3б	40 - 47	<u>190-19000</u> 12250
Ст. 4	7 - 22	<u>100-750</u> 451
Ст. 5а	14 - 25	<u>780-12000</u> 7680
Ст. 5б	14 - 24	<u>500-6000</u> 3600
Ст. 6а	11 - 21	<u>310-22000</u> 15422
Ст. 6б	9 - 20	<u>230-6900</u> 4675

Здесь и далее в табл. 9 в числителе - минимальная и максимальная численность сапрофитов за период исследования, КОЕ /мл., в знаменателе – их средние значения

Корреляционный анализ выявил прямую зависимость численности сапрофитов в воде с перманганатной окисляемостью ($r = 0,69$), содержанием нитратов ($r = 0,99$), нитритов ($r = 0,99$) и аммонием ($r = 0,98$).

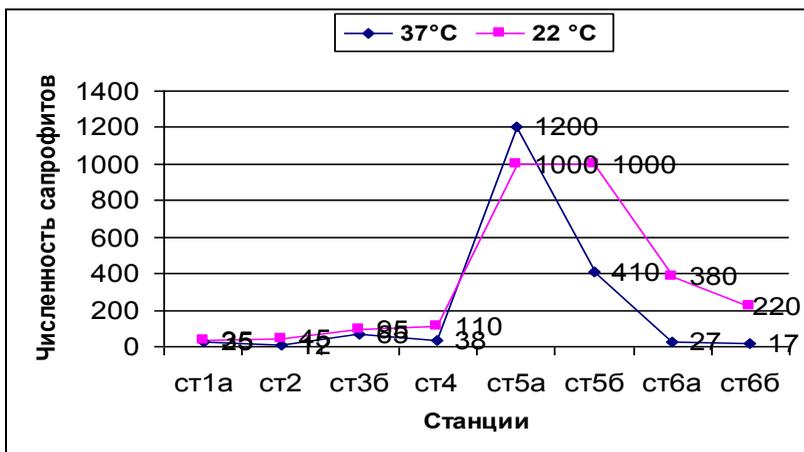


Рис. 2. Численность сапрофитных бактерий в октябре 2005 г.

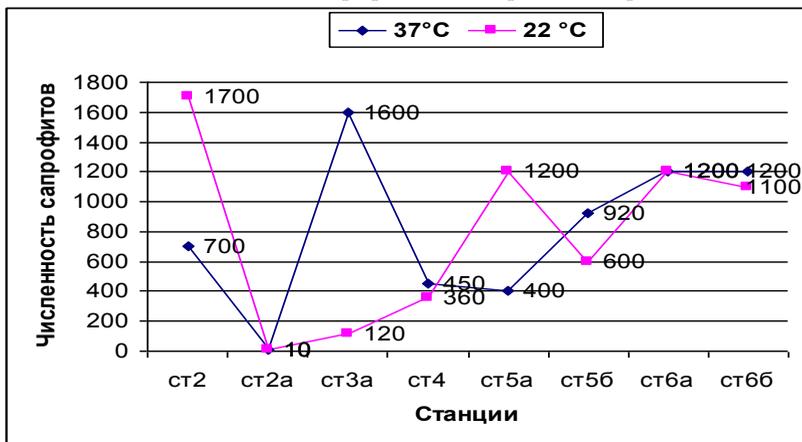


Рис.3. Численность сапрофитных бактерий в июне 2005 г.

Определение количества сапрофитов при разных температурах: 37°C и 20-22 °С позволяет получать дополнительную информацию о санитарном состоянии водоёмов. Численность сапрофитных бактерий в воде при температуре инкубации 20-22°C была выше, чем при температуре инкубации 37°C на всех станциях, кроме ст. 5а.

2.4. Общие колиформные бактерии в воде гидротермы Горячинск

В течение всего периода исследований в воде на ст. 1а в разливе источника и на ст. 2а питьевом фонтанчике ОКБ и ТКБ не обнаружены. В термальных водах коли-индекс колиформных бактерий варьировал от 3 до 1100 при допустимой норме 3 (табл. 7).

Таблица 7

Общие колиформные бактерии в воде источника Горячинск, коли-индекс (КОЕ/мл)

Станция	06.2005	08.2005	10.2005	02.2006	05.2006
Ст. 1а	0	0	0	0	0
Ст. 2	0	0	3	-	0
Ст. 2а	0	0	0	0	0
Ст. 3а	0	0	-	-	1100
Ст. 3б	-	0	0	3	240
Ст. 4	93*	0	43*	3	43*
Ст. 5а	0	0	1100	-	1100
Ст. 5б	0	20*	23*	-	1100
Ст. 6а	0	0	1100*	-	1100*
Ст. 6б	0	0	23*	-	0

*- пробы, в которых были обнаружены термотолерантные колиформные бактерии

Наименьшие показатели коли-индекса общих колиформных бактерий были отмечены в зимний период. В весенне-осенний период численность

ОКБ была выше и коли-индекс был равен 23-1100. Более высокие численности ОКБ были выявлены в мае – из 10 исследованных станций на 4 (в ручье при температуре воды 47,6-16,3 С) коли-индекс составлял 1100. В летний период только на 2 станциях пробы воды не соответствовали нормативам: на ст. 4 (коли-индекс 90) и ст. 5б (20). В мае из 6 нестандартных по коли-индексу проб, только в 2 обнаружены ТКБ, а в октябре – из 5 в 4. Эти результаты показывают на то, что пробы в октябре были подвержены залповому антропогенному загрязнению.

Из исследованных 37 проб воды не соответствовали нормативным показателям 13 проб воды, что составило 35%. В 8 пробах из 13 обнаружены термотолерантные колиформные бактерии (показатели свежего фекального загрязнения).

Комплексное рассмотрение численности сапрофитов и ОКБ в воде показал, что наибольшее аллохтонное загрязнение в источник Горячинск поступает в весенний период.

2.5. Сапрофитные бактерии в донных осадках и микробных матах гидротермы Горячинск

Общая численность сапрофитов в донных осадках варьировала от 100 до 150000 КОЕ/г и микробных матах их количество было выше - от 7000 до 260000 КОЕ/г. (табл. 8). Количество сапрофитных бактерий в донных осадках в выходе (ст. 1а) было низким в течение всего периода исследования и не превышало 850 КОЕ/г.

Таблица 8

Численность сапрофитов в донных осадках и микробных матах источника Горячинск, КОЕ/г (инкубация при 37°С)

Станции	Тип пробы	06.2005	08.2005	10.2005	02.2006	05.2006
Ст. 1а	осадки	-	-	$4,5 \cdot 10^2$	$4,5 \cdot 10^2$	$8,5 \cdot 10^2$
	маты	-	$2,6 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^5$	$7 \cdot 10^3$	$1,1 \cdot 10^4$
Ст. 3а	осадки	$8 \cdot 10^3$	$7 \cdot 10^3$	-	-	-
	маты	$1,2 \cdot 10^4$	$2,2 \cdot 10^4$	-	-	-
Ст. 3б	осадки	-	$1,9 \cdot 10^4$	$2,3 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^3$	$3,5 \cdot 10^3$
	маты	-	-	$4 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$	$9,7 \cdot 10^4$
Ст. 4	осадки	$8 \cdot 10^4$	$4,5 \cdot 10^4$	$4,9 \cdot 10^3$	$4,5 \cdot 10^3$	$3,5 \cdot 10^3$
Ст. 5а	осадки	$2,5 \cdot 10^4$	$3,9 \cdot 10^4$	$3,5 \cdot 10^3$	-	$1,2 \cdot 10^3$
Ст. 5б	осадки	$1,5 \cdot 10^5$	$8,5 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^4$	-	$3,2 \cdot 10^3$
Ст. 6а	осадки	$6,8 \cdot 10^4$	$7,5 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^3$	-	$1,2 \cdot 10^3$
Ст. 6б	осадки	$4 \cdot 10^3$	$3,9 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^2$	-	$1,5 \cdot 10^2$

Динамика численности сапрофитов в донных осадках по сезонам года показала, что их количество возрастает в летний период. Максимальная их численность 150000 КОЕ/г была выявлена в июне на ст. 5б. Высокими их численности были и в августе (до 85000 КОЕ/г на ст. 5б). На остальных

станциях количество сапрофитных бактерий было на 1-2 порядка выше, чем в выходах (ст. 1а). Зимой численность сапрофитных бактерий в донных осадках не превышала 5000 КОЕ/г, Следует отметить, что численность сапрофитов в микробных матах была больше на 1-2 порядка, чем в донных осадках и по сезонам сильно не изменялась.

Распределение численности сапрофитных бактерий в сезонном разрезе по отдельным станциям можно также характеризовать, как динамичное (табл. 9). Значительное варьирование численности сапрофитных бактерий относительно среднего свидетельствует о поступлении легкоразлагаемого органического вещества в разных местах по ручью.

Численность сапрофитных бактерий в донных осадках была на 2-3 порядка выше, чем в воде. Это свидетельствует о более интенсивных процессах деструкции органического вещества в донных осадках и микробных матах. Кроме того, постоянно их высокая численность указывает на то, что в микробном мате активно синтезируется автохтонное органическое вещество, которое является субстратом для сапрофитов.

Таблица 9

Изменение численности сапрофитных бактерий в донных осадках и микробных матах гидротерме Горячинск

Станция	КОЕ/г
Ст. 1а (донные осадки)	<u>450-850</u> 583
Ст. 1а (микробные маты)	<u>7000-260000</u> 109500
Ст. 3а (донные осадки)	<u>7000-8000</u> 7500
Ст. 3а (микробные маты)	<u>12000-22000</u> 17000
Ст. 3б (донные осадки)	<u>230-19000</u> 6932
Ст. 3б (микробные маты)	<u>4000-97000</u> 35000
Ст. 4 (донные осадки)	<u>3500-80000</u> 27580
Ст. 5а (донные осадки)	<u>1200-39000</u> 17175
Ст. 5б (донные осадки)	<u>3200-150000</u> 62300
Ст. 6а (донные осадки)	<u>1000-75000</u> 36300
Ст. 6б (донные осадки)	<u>10-39000</u> 10790

2.5. Общие колиформные бактерии в донных осадках и микробных матах гидротермы Горячинск

В течение всего периода исследований в илах на ст. 1а (выходе источника) ОКБ не обнаружены, а на ст. 6б (место впадения в оз. Байкал) ОКБ выявлены единично – в мае и коли-титр (10 г) не превышал допустимые нормы (табл. 10).

Таблица 10

Общие колиформные бактерии в донных осадках и микробных матах источника Горячинск, коли титр (г)

Станция	Тип пробы	06.2005	08.2005	10.2005	02.2006	05.2006
Ст. 1а	осадки	-	0	0	0	0
	маты	-	0,0001	0	0	0
Ст. 3а	осадки	0	10	-	-	-
	маты	0	10	-	-	-
Ст. 3б	осадки	-	0,001*	0	0	0
	маты	-	-	0	0,01	1,0
Ст. 4	осадки	10	0,1*	0	0,01	-
Ст. 5а	осадки	0	0,001*	10	-	0,001
Ст. 5б	осадки	0,01	0	10	-	0,001
Ст. 6а	осадки	0,01	0	0	-	1,0*
Ст. 6б	осадки	0	0	0	-	10

*- пробы, в которых были обнаружены термотолерантные колиформные бактерии

Наименьшие показатели коли-титра общих колиформных бактерий были отмечены в осенний период: ОКБ обнаружены на 2 станциях из 9, коли-титр которых не превышал допустимые нормы.

В весенне-летний период количество обнаруженных ОКБ было выше и коли-титр колебался от 0,1 до 0,0001 г. Более высокие численности ОКБ были выявлены в августе – из 8 исследованных станций на 4 коли-титр варьировал от 0,1 до 0,0001 г. В зимний период только на 2 станциях пробы донных осадков и микробных матов не соответствовали нормативам: на ст. 3б и 4 (коли-титр 0,01). В сезонном разрезе по станциям можно сказать, что наиболее часто загрязняются ст. 5а; 5б и 6а, где их коли-титр варьирует от 0,01 до 0,001г.

Таким образом, из 12 проб донных осадков, в которых выявлены общие колиформные бактерии в 4 обнаружены термотолерантные бактерии (табл. 10). Следует отметить, что в микробных матах не были обнаружены термотолерантные колиформные бактерии.

2.6. Гидрохимические показатели холодных аршанов Серебряный и Кумыска

Впервые проведен гидрохимический анализ холодных аршанов Серебряный и Кумыска. Температура варьировала от 2 до 5 °С. Значения рН были близки к нейтральным (6,8-7,2).

В воде источников наблюдалось преобладание гидрокарбонат-ионов, концентрация которых достигала в источнике Серебряный 268,4 мг/л,

Кумыска – 366 мг/л, концентрация сульфатных ионов – 70,3 и 91,02 мг/л соответственно. Содержание хлорид-ионов не превышало 19,9 и 42,6 мг/л соответственно. Максимальное количество фторид-ионов было равно 0,89 мг/л в источнике Кумыска и 0,36 – в Серебряном. Суммарная концентрация ионов натрия и калия составила в источнике Серебряный 79,44 мг/л, а в Кумыска – 83,76. Содержание ионов магния в количестве 141,6 мг/л и кальция - 80,2 мг/л было выявлено в воде Серебряного источника, а в воде Кумыски - 48,6 и 144,3 мг/л соответственно. Типизация воды холодных источников показала, что вода аршана Серебряный является гидрокарбонатный натриевый с минерализацией от 230 до 450 мг/дм³, а вода аршана Кумыска гидрокарбонатной натриево-кальциевой от 400 до 640 мг/дм³ в зависимости от сезона отбора проб.

2.7. Сапрофитные бактерии в воде холодных аршанов Серебряный и Кумыска

Общее количество сапрофитов в воде холодного аршана Кумыска варьировало от 10 до 165 КОЕ/мл, в Серебряном - от 10 до 150 КОЕ/мл (рис. 4,5,6). Количество сапрофитных бактерий в воде холодного аршана не превышали допустимые нормы в Кумыске в 2004 г. и в Серебряном в 2006 г.

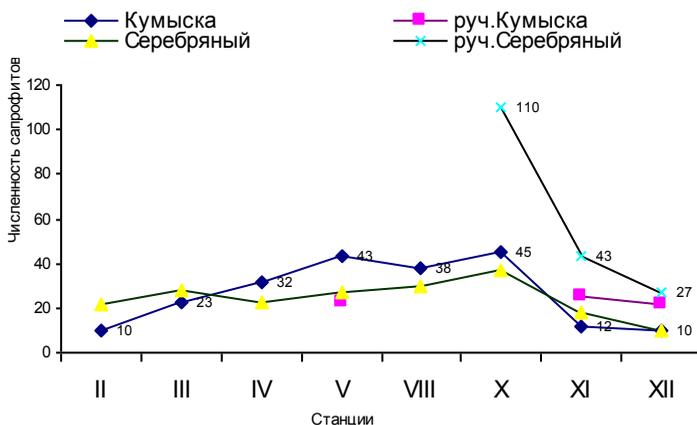


Рис.4. Численность сапрофитных бактерий в холодных источниках, 2004 г.

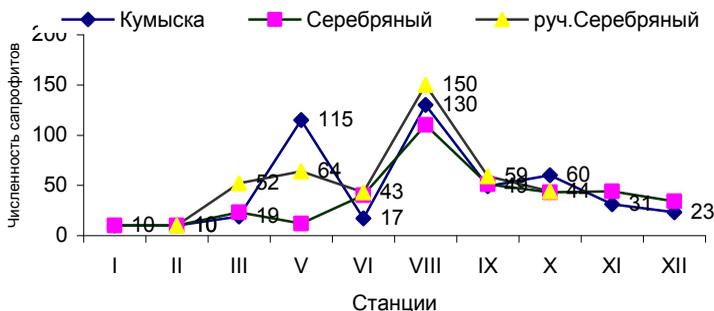


Рис. 5. Численность сапрофитных бактерий в холодных источниках, 2005 г.

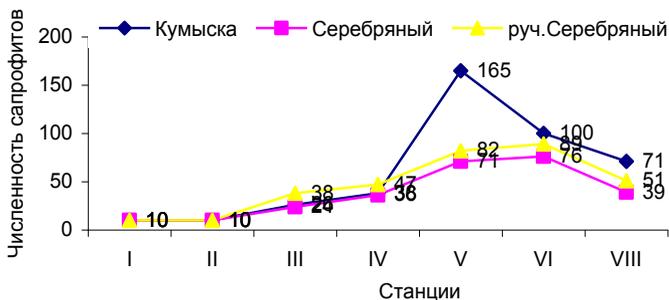


Рис.66. Численность сапрофитных бактерий в холодных источниках, 2006 г.

Повышение их численности в Кумыске отмечено в мае и августе 2005 г., в мае 2006 г. и их количество было равно 115, 130, 165 КОЕ/мл соответственно. В Серебряном источнике нестандартными по этому показателю были 3 пробы, отобранные в июне 2004 г. (110 КОЕ/мл) и в августе 2005 г.: (озерко-120, ручей-150).

Таким образом, увеличение численности сапрофитных бактерий в холодных источниках наблюдалось в весенне-летний сезон. По-видимому, это связано с поступлением органического вещества с талыми водами весной и с почвенными смывами во время летних дождей.

2.8. Общие колиформные бактерии в воде холодных аршанов Серебряный и Кумыска

В период исследования в водах холодного источника Кумыска коли-индекс варьировал от 13 до 150. Коли-индекс в мае и июне 2005 г. составлял 150 и 120 соответственно. В остальное время их значение варьировало от 13 до 43. В Серебряном источнике коли-индекс изменялся

от 23 до 120, достигая максимальных значений в мае 2005 г. В остальные месяцы коли-индекс варьировал от 23 до 93. Следует отметить, что термотолерантные бактерии *E.coli* - индикаторы свежего фекального загрязнения, не были выявлены в воде Серебряного источника, в то время как в воде источника Кумыска они выявлялись ежегодно: в марте 2004 г. коли-индекс достигал 13, в мае 2005 и 2006 гг.- 120 и 43 соответственно. Вероятно, это связано с тем, что источник расположен в населенной местности и подвергается антропогенному загрязнению.

Таким образом, проведение санитарно-микробиологического исследования источников Верхней Берёзовки Серебряный и Кумыска в период 2004-2006 гг. показали: вода источника Кумыска, находящегося на территории населенного пункта, не соответствует допустимым нормам по микробиологическим показателям (зима, весна и лето). Здесь же выявлены свежие фекальные загрязнения. Вода Серебряного источника, который находится в лесу и меньше подвергается антропогенной нагрузке, является более чистой по микробиологическим параметрам. Отклонение от нормы наблюдалось лишь в мае 2004 г. и мае, августе 2005 г. В холодных аршанах из исследованных 68 проб 12 превышали нормируемые показатели, что составило 7%, из них в 4 пробах обнаружены термотолерантные колиформные бактерии.

2.9. Условно-патогенные бактерии семейства *Enterobacteriaceae*

Из термальных и холодных источников Прибайкалья были выделены и идентифицированы условно-патогенные бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, которые относились к родам *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia* и *Citrobacter* (рис.7).

Среди выделенных культур из проб воды, донных осадков и микробных матов бактерии рода *Escherichia* составили 43%, *Enterobacter* - 43%, *Klebsiella* - 9%, *Citrobacter* - 5%.

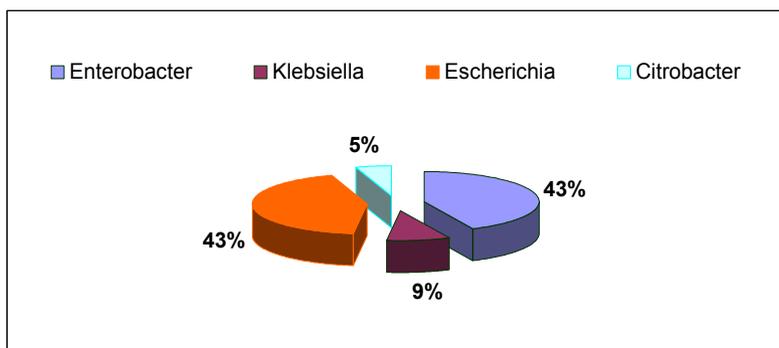


Рис.7. Выделенные культуры в холодных и горячих источниках, в %

Следует отметить, что в воде, донных осадках и микробных матах термальных источников не встречались бактерии рода *Citrobacter*, а в воде холодных аршанов - бактерии рода *Klebsiella*. В микробных матах гидротермы Горячинск не были обнаружены бактерии рода *Escherichia*. Был определен видовой состав выделенных энтеробактерий (табл. 12).

Таблица 12

Энтеробактерии в термальных и холодных источниках Прибайкалья

Источники	<i>E. aerogenes</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. agglomerans</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. amnigenus биоэппина 2</i>	<i>C. freundii</i>
Кумыска (колодец)	-	-	+	-	+	-	+
Кумыска (ручей)	-	-	-	-	-	-	+
Серебряный (озерко)	-	-	-	+	-	-	-
Серебряный (ручей)	-	-	-	-	-	-	-
Горячинск (вода)	+	+	+	+	+	+	-
Горячинск (донные осадки)	+	-	+	+	-	-	-
Горячинск (микробные маты)	+	+	-	-	-	-	-

2.10. Другие индикаторные микроорганизмы в минеральных источниках Горячинск, Серебряный и Кумыска

Pseudomonas aeruginosa. В последние годы возрастает значение *Pseudomonas aeruginosa* в патологии человека. Обнаружение *Ps. aeruginosa* в объектах окружающей среды сигнализирует одновременно об эпидемическом (как патоген) и санитарном (как индикатор биологического загрязнения) неблагополучии. В исследованных пробах воды горячих и холодных источников не были обнаружены *Pseudomonas aeruginosa*.

Clostridium perfringens. В донных осадках и микробных матах гидротермы Горячинск обнаружены бактерии *Clostridium perfringens*, титр которых варьировал от 0,1 до 0,0001 г (табл. 11). В зимний период на всех обследованных станциях титр *Clostridium perfringens* был равен 0-0,1 г, что не превышал допустимые нормы. В другие сезоны отмечено увеличение количества сульфитредуцирующих клостридий (титр составлял 0,1-0,0001 г). Наиболее загрязненными были пробы осадков (ст.5а, 5б и 6а) в июне, августе и октябре 2005 г. На этих станциях также были выявлены колиформные бактерии в июне и мае, что подтверждает их фекальное загрязнение. Одновременное обнаружение ОКБ и *Clostridium perfringens* в

донных осадках подтверждает их фекальное загрязнение. На станциях, где были выявлены только клостридии, то это свидетельствует о загрязнении более отдаленного характера.

Таблица 11

Количество *Clostridium perfringens* в донных осадках и микробных матах источника Горячинск, коли-титр (г)

Станции	Тип пробы	06.2005	08.2005	10.2005	02.2006	05.2006
Ст. 1а	осадки	-	-	-	0	0,1
	маты	-	0	0,01	0	0,1
Ст. 3а	осадки	0	0,1	-	-	-
	маты	0	0,1	-	-	-
Ст. 3б	осадки	-	0,1	0,1	0,1	0,01
	маты	-	-	0,1	0	0,1
Ст. 4	осадки	0,1	0,01	0,1	0,1	0,1
Ст. 5а	осадки	0,0001	0,001	0,001	-	0,01
Ст. 5б	осадки	0,001	0,0001	0,0001	-	0,01
Ст. 6а	осадки	0,001	0,0001	0,01	-	0,1
Ст. 6б	осадки	0,1	0	-	-	0,1

Колифаги. На наличие колифагов были исследованы пробы воды гидротермы Горячинск (весной, летом, осенью и зимой) и холодных источников Серебряный и Кумыска (ежемесячно). Все пробы были отрицательными.

Патогенные энтеробактерии. Контроль минеральных вод на присутствие в них патогенных энтеробактерий осуществляют по обнаружению бактерий рода *Salmonella*, как наиболее устойчивых из патогенных представителей этого семейства, и учитывают их отсутствие в 1000 мл воды. В исследованных пробах воды источников патогенные энтеробактерии не были обнаружены.

Патогенная кокковая микрофлора. Стафилококки определяли в донных осадках и микробных матах как показатель загрязнения микрофлорой верхних дыхательных путей и кожных покровов человека. В донных осадках и микробных матах не были обнаружены *Staphylococcus aureus*.

Цисты патогенных кишечных простейших. В исследованных пробах воды гидротермы Горячинска и холодных источников Серебряный и Кумыска не обнаружены цисты патогенных кишечных простейших (цисты лямблий, амёбы дизентерийной и цисты балантидия кишечного).

2.11. Выживаемость *E. coli* в пробах минеральной воды гидротермы Горячинск

Вода не является благоприятной средой для размножения патогенных микроорганизмов, но они способны сохраняться и выживать в этой среде определённое время. На продолжительность их выживания влияют биологические свойства, доза обсеменения, степень загрязнённости воды, наличие бактериофагов, химический состав воды, pH, солнечная радиация, температура.

В модельных экспериментах в лабораторных условиях была изучена выживаемость музейной культуры *E. coli* в воде, донных осадках и микробных матах в зависимости от дозы искусственного заражения и температуры инкубации. Оказалось, что при концентрации бактерий *E. coli* $1 \cdot 10^7$ КОЕ/мл их выживаемость не зависела от типа пробы. *E. coli* сохраняли жизнеспособность при температуре 20-22 °С в течение 91-93 суток, при 30°С - 97-98 суток и при 5°С - 121- 127 суток (табл. 13).

Таблица 13

Выживаемость *E. coli* в пробах минеральной воды, сутки

Температура инкубации	Вода с донными осадками		Вода с микробными матами		вода	
	1*	2*	1	2	1	2
5°	58±4	121±4	58±4	123±7	62±4	127±4
20-22°	21±3	91±4	19±2	93±2	28±3	92±3
30°	57±4	98±4	54±3	98±4	20±3	97±6
37°	21±8	-	19±5	-	28±2	-
45°	17±3	-	18±1	-	19±4	-

* Концентрация *E. coli* в пробах: 1- $2,5 \cdot 10^5$ КОЕ/мл; 2 - $2,5 \cdot 10^7$ КОЕ/ мл

При понижении содержания бактерий до $2,5 \cdot 10^5$ КОЕ/мл сроки выживаемости снижались. Так, при температурах инкубации 20-22, 37 и 45 °С *E. coli* погибали в течение 17-28 суток как в воде, так и в пробах воды с осадками и микробными матами. А при температуре 5°С они оставались жизнеспособными в течение 58-62 суток. При инкубировании зараженных проб при температуре 30°С клетки *E. coli* погибали в воде раньше (20 суток), чем в пробах с осадками и матами (54-57).

Таким образом, выживаемость *E. coli* в пробах минеральной воды зависит от концентрации инокулята, температуры инкубации и типа пробы.

Выводы

1. Сравнительное санитарно-микробиологическое изучение холодных и горячих источников Прибайкалья показало, что численность сапрофитов зависит от температуры воды, сезонов года и антропогенной нагрузки. Численность сапрофитных бактерий в воде источников увеличивалась в весенне-летний период, в донных осадках - в летний.

2. Минеральные источники подвержены антропогенному воздействию, о чем свидетельствует выявление колиформных бактерий в воде источников, донных осадках и микробных матах гидротерм.
3. В исследуемых источниках распространены условно-патогенные бактерии, относящиеся к родам *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia* и *Citrobacter*. В горячих источниках не обнаружены бактерии рода *Citrobacter*, а в холодных аршанах - *Klebsiella*. В воде источников не выявлены патогенные энтеробактерии, *Pseudomonas aeruginosa* и колифаги. В донных осадках источника Горячинск обнаружены бактерии *Clostridium perfringens*, которые являются показателем антропогенного загрязнения.
4. Общие колиформные бактерии в пробах минеральной воды с донными осадками и микробными матами сохраняли жизнеспособность при температуре 30°C дольше, чем в минеральной воде. Выживаемость при температурах 5, 22, 37, 45°C не зависела от типа пробы.
5. Минеральная вода горячих источников при выходе на поверхность соответствует санитарно-микробиологическим нормам по содержанию сапрофитов и общих колиформных бактерий в отличие от холодных источников.

Список работ, опубликованных по материалам диссертации:

1. Дармаева Б. В. Микроорганизмы - индикаторы в минеральных источниках Байкальского региона / Б.В. Дармаева, Б. Б Намсараев // Матер-лы российской научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора Е.В. Талалаева. - Иркутск: изд-во ИГУ, 2002. –С.139.
2. Дармаева Б. В. Медико-биологическая характеристика гидротерм Бурятии /Б. В Дармаева, Д. Д, Бархутова // Материалы VI Международной научной школы- конференции студентов и молодых учёных «Экология Южной Сибири и сопредельных территорий» (27- 29 ноября 2002 г.). – Абакан, 2002. - С. 41.
3. Дармаева Б. В. Санитарно-микробиологическая характеристика гидротермы Горячинск /Б. В Дармаева, Д. Д. Бархутова // Тезисы Всероссийской конференции с международным участием «Биоразнообразие экосистем Внутренней Азии». - Улан-Удэ, 2006. – С.38.
4. Дармаева Б. В. Санитарно-микробиологическая характеристика источников Кумыска и Серебряный / Б. В Дармаева, Д. Д, Бархутова

//Вестник БГУ. Серия 2. Биология. – Вып. 7. –Улан–Удэ, 2005. – С. 160-164.

5. Дармаева Б. В. Оценка качества минеральной воды и донных осадков гидротермы Горячинск по микробиологическим показателям //Дармаева Б.В., Бархутова Д. Д. // Вестник БГУ. Серия 2. Биология. – Вып. 8. –Улан–Удэ, 2006.- С. 47-51.

Подписано в печать 13.04.2007 г. Формат 60*84/16.

Тираж 100 экз. Усл. печ. л. __Заказ №

Издательство Бурятского государственного университета
670000 г.Улан-Удэ, ул.Смолина, 24 а.