

УДК 579.68

**ПОЛИФОСФАТ-АККУМУЛИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ВОДОЕМОВ В УСЛОВИЯХ
НАГРУЗОК ПО БИОГЕНАМ**

Морозова Ольга Владимировна

канд. биол. наук

Институт проблем экологии и недропользования Академии наук
Республики Татарстан, Казань

author@apriori-journal.ru

Аннотация. Установлено, что в условиях открытых и заросших экспериментальных водоемов, на фоне нагрузок по фосфатам, а также фосфатам и нитратам, происходило развитие полифосфат-аккумулялирующих бактерий. В биотопах с макрофитом *T.angustifolia* бактерии накапливали полифосфаты даже в условиях снижения концентрации фосфатов, и таким образом, играли важную роль в аккумуляции и сохранении фосфора для планктонного сообщества.

Ключевые слова: полифосфат-аккумулялирующие бактерии; макрофит; бактериопланктон.

POLYPHOSPHATE-ACCUMULATING BACTERIA IN EXPERIMENTAL PONDS WITH LOADS OF BIOGENS

Morozova Olga Vladimirovna

candidate of biology

Research Institute for Problems of Ecology and Mineral
Wealth Use of Tatarstan Academy of Sciences, Kazan

Abstract. It was found that polyphosphate-accumulating bacteria grew in open and overgrown experimental ponds with loads of phosphates, as well as phosphates and nitrates. In biotopes with macrophyte *T.angustifolia*, bacteria accumulated polyphosphates even in the face of declining phosphate concentration, and thus played a major role in the accumulation and retention of phosphorus for plankton community.

Key words: polyphosphate-accumulating bacteria; macrophyte; bacterioplankton.

Проблема загрязнения пресноводных водных экосистем минеральным фосфором вследствие человеческой деятельности становится все более актуальной.

Микроорганизмы играют ключевую роль в биогеохимических циклах соединений углерода, азота, фосфора и других элементов. Для понимания перемен, происходящих в экосистеме после внесения биогенных элементов, необходимы знания того, как микробные сообщества отвечают на изменения в концентрациях биогенов.

Среди основных факторов, определяющих эффективность удаления фосфора из загрязненных гидроэкосистем, рассматриваются микроорганизмы, ассимилирующие неорганический фосфор, являющийся необхо-

димым компонентом клеток, а также микроорганизмы способные накапливать его в своих клетках в виде гранул полифосфатов (волютина). Полифосфаты были обнаружены и описаны у ряда прокариот [1-3]. Накопление этих полифосфатных полимеров, способствующих выживанию при недостатке в среде тех или иных питательных компонентов – один из способов адаптации прокариотных организмов к изменениям окружающей среды. Внутриклеточные полифосфаты связаны с рядом важных микробиологических процессов, подвижностью, образованием биопленок, компетентностью, вирулентностью и т.д. [2; 4].

Надводные макрофиты – важные компоненты гидрэкосистемы, также способны поглощать и накапливать в своей биомассе биогенные элементы [5-6]. При высоких концентрациях азота и фосфора в гидрэкосистеме, макрофиты содержат более высокие концентрации этих элементов в своих тканях [7-8].

В круговороте биогенных элементов особое место занимают макрофитно-бактериальные взаимодействия. Поэтому все большую актуальность приобретают комплексные исследования механизмов взаимодействия между бактериопланктоном и макрофитами в условиях различных стрессовых нагрузок по биогенным элементам, и в рамках этого, изучение влияния таких нагрузок на природный метаболизм бактериальных полифосфатов.

Материалы и методы. Исследования проводились в условиях экспериментальных водоемов, включающих слой грунта, природную воду объемом 30 литров с сопутствующими гидробионтами, куртины рогоза узколистного (*Typha angustifolia*) из озера Средний Кабан, расположенного на территории г. Казани республики Татарстан РФ. Моделировали два типа экспериментальных водоемов – заросший (с рогозом узколистным) и открытый (без рогоза). В опытные варианты вносили минеральный фосфор (Na_2HPO_4) в концентрации 20 мг/л по фосфору, а также ми-

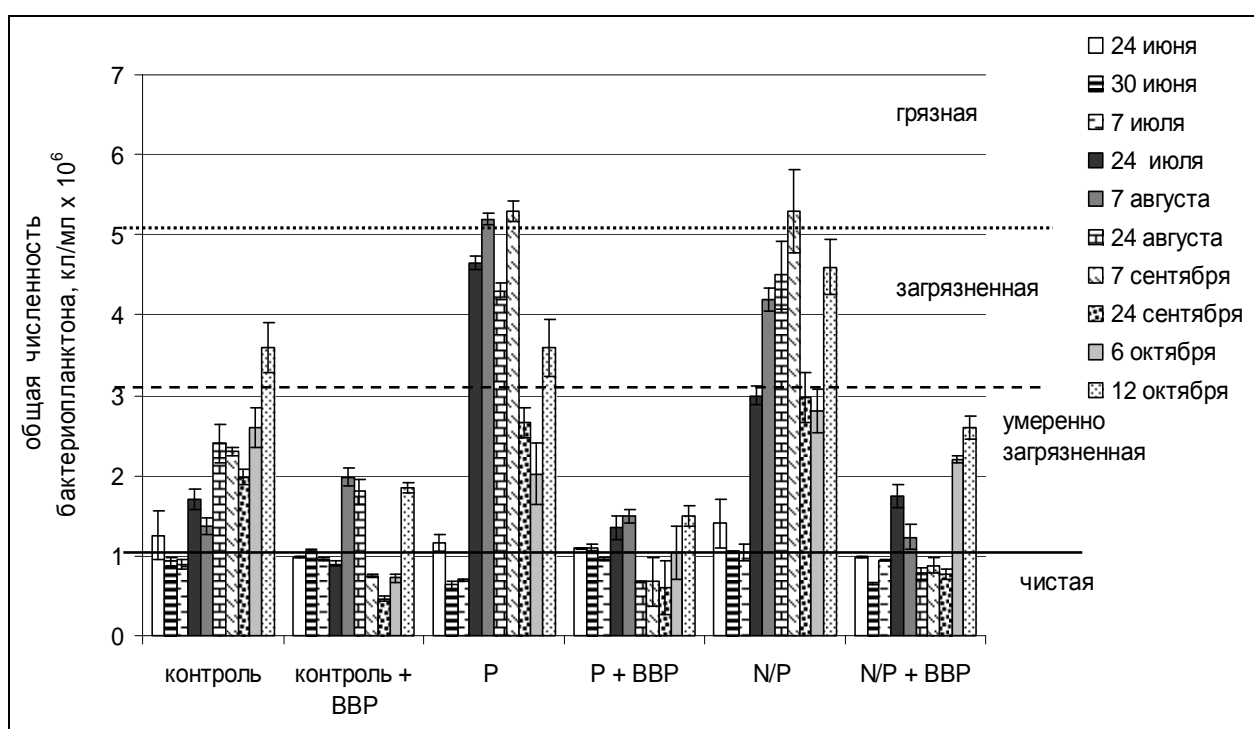
неральный фосфор в той же концентрации и нитратный азот (NaNO_3) в концентрации 100 мг/л по азоту.

Пробы воды отбирались каждые 2 недели в течение четырех месяцев с июля по октябрь. Общее количество бактериопланктона и количество полифосфат-аккумулирующих бактерий (ФАБ) определяли методом прямого счета на мембранных фильтрах Владипор (Россия), окрашенных толуидиновым синим для окраски волютиновых (полифосфатных) гранул [9-10]. На каждом фильтре подсчитывали не менее 500 клеток в 10 полях зрения и измеряли не менее 100 клеток. Размеры бактерий определяли с помощью линейного окуляр-микрометра. Объемы бактерий вычисляли по формуле объемов шара, цилиндра и эллипсоида. Биомассу бактерий получали путем умножения их численности на средние объемы клеток. Содержание углерода рассчитывали по формуле, связывающей объем клеток и углерод [11]. С помощью классификатора качества вод Росгидромета, оценивали качество воды экспериментальных водоемов по общему количеству бактериопланктона [12].

Результаты и обсуждение. В результате наших исследований установлено, что внесение неорганического фосфора, а также неорганического фосфора совместно с нитратным азотом, приводило к увеличению общей численности и биомассы бактериопланктона, особенно в открытых биотопах и соответственно к изменению класса качества воды по бактериопланктону (табл. 1, рис. 1, 2). Состояние воды по бактериопланктону характеризовалось в открытых биотопах, согласно классификатору качества вод Росгидромета [12], как «умеренно загрязненная», «сильно загрязненная» или «грязная», в зависимости от времени отбора проб (табл. 1, рис. 1). В биотопах с высшей водной растительностью, через два месяца после внесения фосфатов, наблюдалось снижение в два раза общей численности бактерий и состояние воды по бактериопланктону характеризовалось как «чистая» или «умеренно загрязненная» (табл. 1, рис. 1).

Классификатор качества вод Росгидромета по бактериопланктону [12]

Класс качества вод	Степень загрязненности воды	Общее количество бактерий, 10^6 кл/мл
I	Очень чистые	Менее 0,5
II	Чистые	0,5-1,0
III	Умеренно загрязненные	1,1-3,0
IV	Загрязненные	3,1-5,0
V	Грязные	5,1-10,0
VI	Очень грязные	Более 10



Здесь и далее:

Р – минеральный фосфор

N – нитратный азот

ВВР – высшая водная растительность

Рис. 1. Общая численность бактериопланктона. Класс качества воды указан согласно классификатору Росгидромета

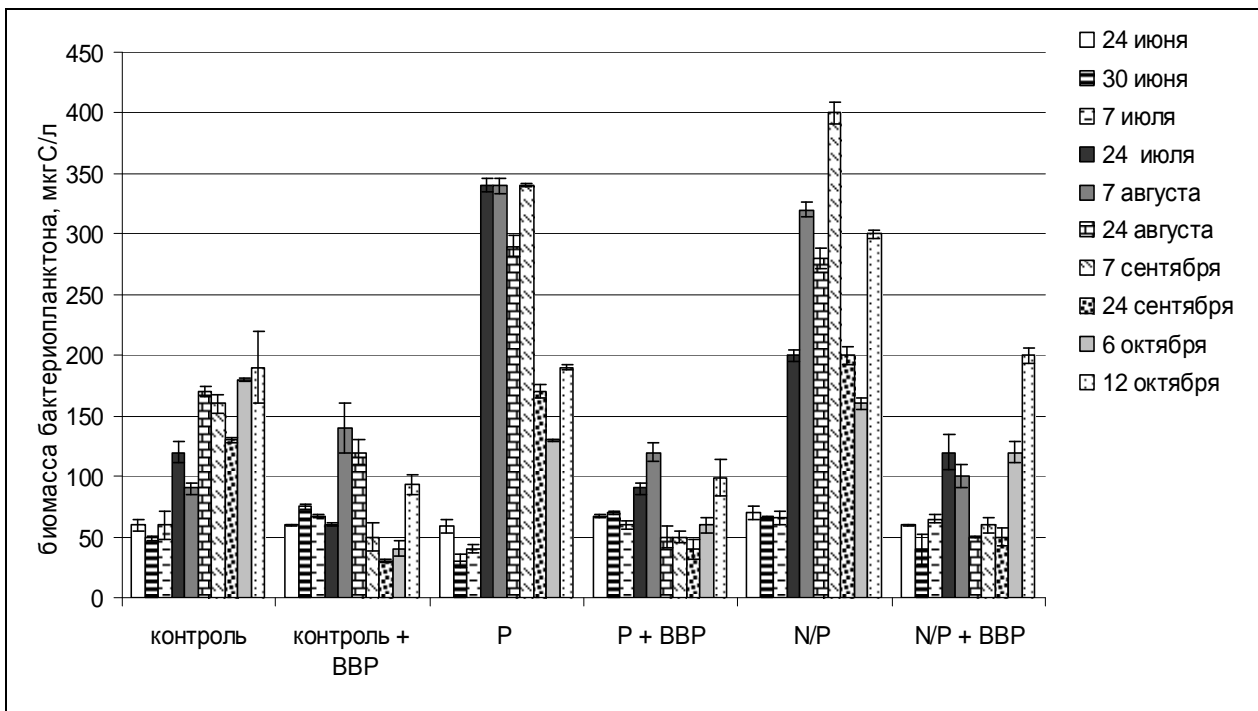


Рис. 2. Биомасса бактериопланктона

Различие в численности бактериопланктона, скорее всего, связано с комплексным воздействием, которое оказывает высшая водная растительность на планктонное сообщество экспериментальных водоемов. Воздействие это происходит опосредованно через лимитирование питательных веществ в окружающей водной среде, приводящее к снижению численности бактериопланктона. Макрофит может активно накапливать фосфор, снижая его концентрацию в водной среде [13-14], а также способен подавлять рост фитопланктона, являющегося продуцентом растворенного органического углерода [5; 14].

Внесение фосфатов, а также фосфатов совместно с нитратами, вызывало увеличение численности полифосфат-аккумулирующих бактерий в несколько раз по сравнению с контролем, особенно в открытых биотопах (рис. 3). Самая высокая численность (0,62 млн кл/мл) бактерий с гранулами волютина была характерна для открытого биотопа через месяц после внесения минерального фосфора (рис. 3).

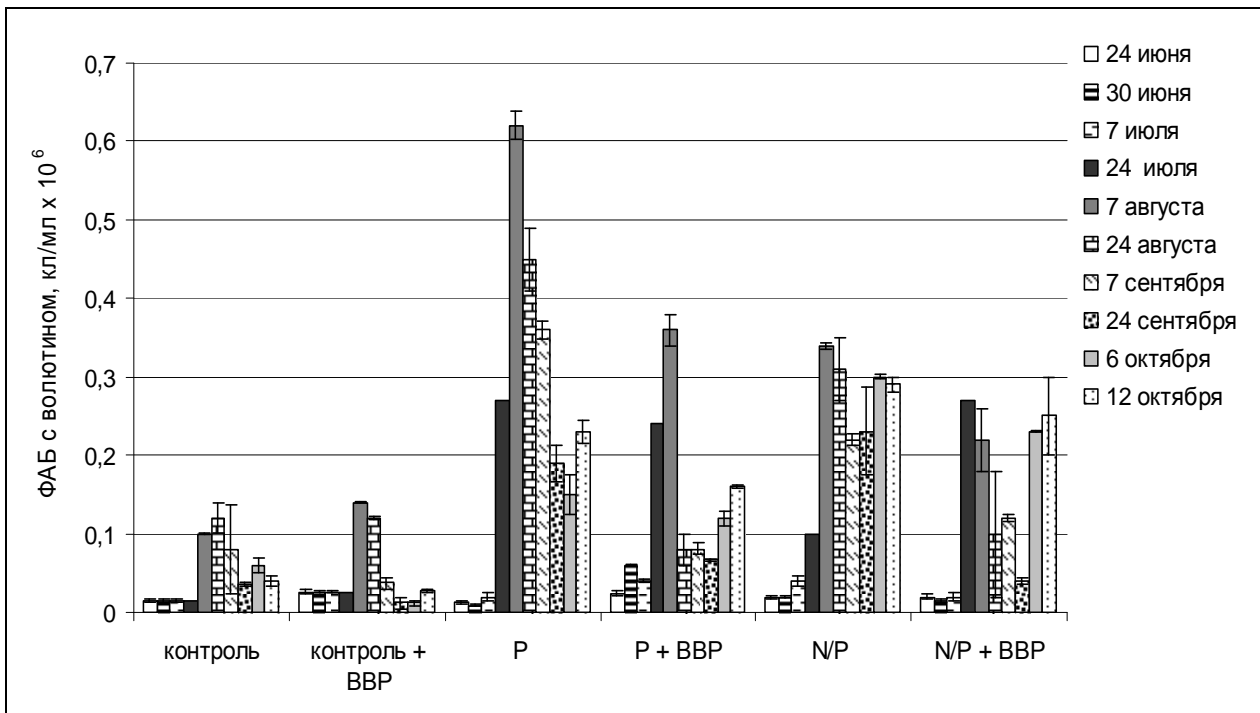


Рис. 3. Численность полифосфат-аккумулирующих бактерий (ФАБ)

Процент, полифосфат-аккумулирующих бактерий от общего количества бактериопланктона, также увеличивался после внесения биогенов. Процент этот был выше в заросших биотопах (рис. 4).

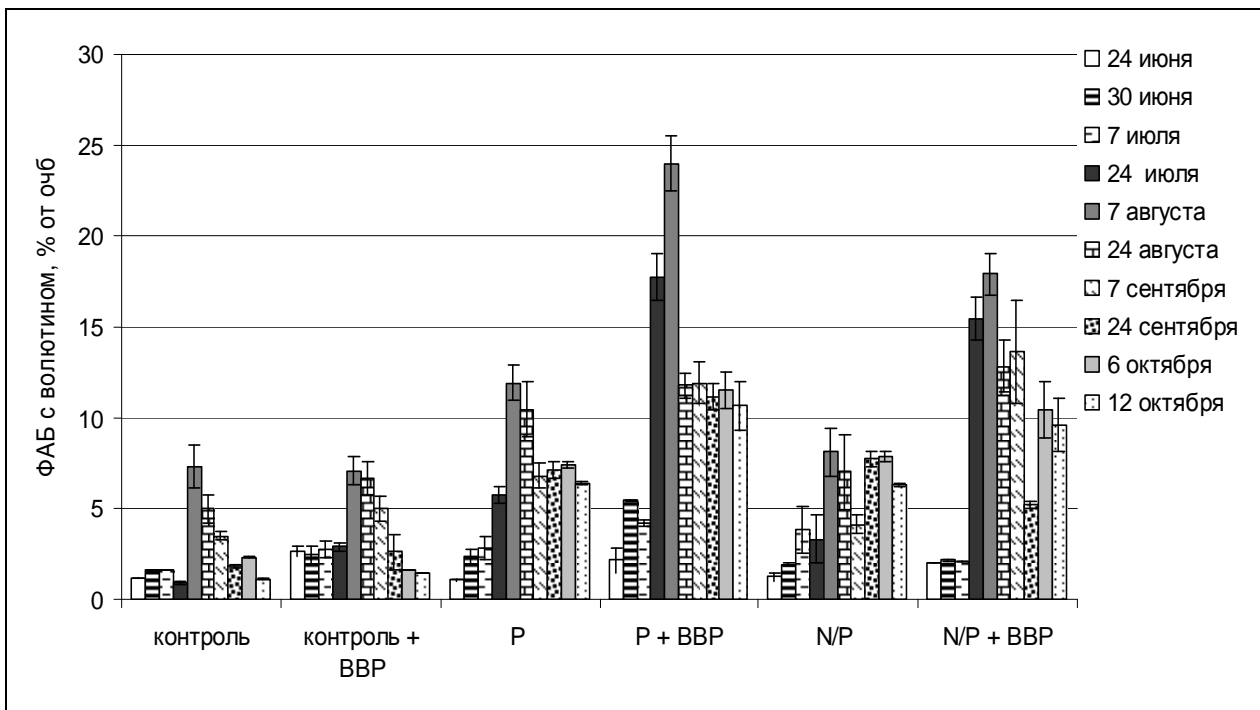


Рис. 4. Процент полифосфат-аккумулирующих бактерий (ФАБ) от общей численности бактериопланктона

Для контрольных биотопов был характерен низкий процент полифосфат-аккумулирующих бактерий (до 7 % от общей численности бактериопланктона). Процент ФАБ резко увеличивался в заросших биотопах уже через месяц после внесения биогенов и до конца опыта был выше, чем в открытых биотопах (рис. 4).

Процент ФАБ после внесения минерального фосфора в открытом биотопе достигал значения всего лишь 12 %, а в заросшем – 24 % от общего количества бактериопланктона (рис. 4). После внесения фосфора вместе с нитратным азотом процент бактерий с волютином в открытом биотопе составлял 8-10 %, а в заросшем – 18 % (рис. 4). Присутствие высоких концентраций нитратов немного уменьшило численность полифосфат-аккумулирующих бактерий и процент их в составе бактериопланктона (рис. 3, 4).

Следует особо отметить, что концентрация фосфатов в заросших биотопах снижалась до уровня контроля ($0,05 \text{ мг/дм}^3$) в августе, т.е. уже через два месяца после внесения нагрузок. В открытых биотопах уровень фосфатов сохранялся очень высоким ($1,5-9,5 \text{ мг/дм}^3$) до конца периода наблюдений. Концентрация нитратов также снижалась быстрее в заросших биотопах. Несмотря на низкие концентрации фосфатов в заросших биотопах, численность полифосфат-аккумулирующих бактерий, а также процент их от общего числа бактериопланктона, как уже отмечалось, оставались на высоком уровне до конца эксперимента.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют об участии бактериопланктона и высшей водной растительности в удалении фосфора из загрязненных экспериментальных водоемов. Полифосфат-аккумулирующие бактерии, хотя и не занимали доминирующего положения в составе бактериопланктона, тем не менее, вносили свой вклад в процесс потребления неорганического фосфата в биотопах, так как их численность и процент от общего количества бактериопланктона были выше в условиях нагрузок. Если в открытых биотопах развитию поли-

фосфат-аккумулирующих бактерий способствовало наличие высоких концентраций биогенов, и в первую очередь минерального фосфора в экосистеме, то в заросших биотопах, бактерии накапливали полифосфаты даже при снижении концентрации фосфатов в экспериментальном биотопе. В биотопах с высшей водной растительностью, в условиях низкой концентрации фосфора, создавались условия, благоприятные для роста полифосфат-аккумулирующих бактерий. Функция этих бактерий состояла, по-видимому, в аккумуляции биогенных веществ из внешней среды и сохранении фосфора для планктонного сообщества экспериментальных гидроэкосистем.

Результаты исследований в дальнейшем могут найти применение в разработке способов очистки водоемов от минерального фосфора и методов диагностики загрязненных гидроэкосистем.

Список использованных источников

1. Kornberg A. Inorganic polyphosphate: toward making a forgotten polymer unforgettable // J. Bacteriol. 1995. V. 177. № 3. P. 491-496.
2. Kornberg A., Rao N.N., Ault-Riche D. Inorganic polyphosphate: a molecule of many function // Annu. Rev. Biochem. 1999. V. 68. P. 89-121.
3. Mc Grath J.W., Cleary S., Mullan A., Quinn J.P. Acid-stimulated phosphate uptake by activated sludge microorganisms under aerobic laboratory conditions // Wat. Res. 2001. V. 35. P. 4317-4322.
4. Kulaev I., Vagabov V., Kulakovskaya T. New aspects of inorganic polyphosphate metabolism and function // J. of Bioscience and Bioengineering. 1999. V.88, № 2. P. 111-129.
5. Wigand C., Wehr J.D., Limburg K., Gorham B., Lonergan S., Findlay S. Effect of *Vallisneria americana* on community structure and ecosystem function in lake mesocosms // Hydrobiologia. 2000. V. 418. P. 137-146.

6. Wetzel R.G. Fundamental processes within natural and constructed wetland ecosystems: short-term versus long-term objectives // *Wat. Sci Tech.* 2001. V. 44. № 11-12. P. 1-8.
7. Hunt P.G., Poach M.E. State of the art for animal wastewater treatment in constructed wetlands // *Wat. Sci .Tech.* 2001. V. 44. № 11-12. P. 19-25.
8. Greenway M. Suitability of macrophytes for nutrient removal from surface flow constructed wetlands receiving secondary treated effluent in Queensland, Australia // *Wat. Sci. Tech.* 2003. V. 48. № 2. P. 211-218.
9. O'Toole D.K. A toluidine blue-membrane filter method for the quantitative staining of bacteria // *Stain Technology.* 1983. V. 58. № 5. P. 291-298.
10. Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов. М: Наука, 1989. 288 с.
11. Krambeck C., Krambeck H.J., Overbeck J. Microcomputer-assisted biomass determination of plankton bacteria on scanning electron micrographs // *Appl. and Environ. Microbiol.* 1981. V. 42. № 1. P. 142-149.
12. Организация и проведение режимных наблюдений за загрязнением поверхностных вод суши на сети Роскомгидромета. Методические указания. Охрана природы. Гидросфера. РД 52.24.309-92. 1992. СПб.: Гидрометеоиздат. 67 с.
13. Rooney N., Kalff J. Interactions among epilimnetic phosphorus, phytoplankton biomass and bacterioplankton metabolism in lakes of varying submerged macrophyte cover // *Hydrobiologia.* 2003. V. 501. P. 75-81.
14. Huss A.A., Wehr J.D. Strong indirect effects of a submersed aquatic macrophyte, *Vallisneria americana*, on bacterioplankton densities in a mesotrophic lake // *Microbial ecology.* 2004. V. 47. P. 305-315.