

БИОХИМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ ВОДЫ И ГРУНТОВ РЫБОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ВОДОЕМОВ АРИДНОЙ ЗОНЫ

И.Ю. Киреева

*Национальный аграрный
университет Украины*

*Украина, 03041, г. Киев,
ул. Родимцева, 19*

*e-mail:
cde@twin.nauu.kiev.ua*

Представлены материалы исследования бактериальной биохимической активности воды и грунтов производственных выростных прудов, а также численности и сезонной динамики отдельных физиологических групп бактерий выростных прудов с разным уровнем интенсификации рыбоводного процесса (интенсивная и полунинтенсивная технологии выращивания рыбы). Установлено, что особенностью круговорота азота в воде обследованных водоемов являлось сокращение количества и биохимической активности нитрифицирующих бактерий, рост числа и активности процессов денитрификации и аммонификации по мере усиления интенсивности рыбоводного процесса. Показано, что вода и грунты рыбоводных прудов характеризовались высокой активностью процессов бактериальной трансформации органических соединений белковой и углеводной природы, которая возрастала по мере усиления интенсивности кормления и зависела от количества бактерий этих групп. Полученные данные позволяют оптимизировать интенсивность бактериальных процессов в целях получения высокой рыбопродуктивности.

Ключевые слова: бактериопланктон, бактериобентос, аммонификаторы, денитрификаторы, нитрификаторы, липолитические, амилолитические, водоподающий канал.

Принятые сокращения: АК – аминокислоты.

Введение

В процессах самоочищения водоемов определяющая роль принадлежит бактериальным ферментам. В рыбохозяйственных водоемах (прудах) их количество достигает особенно больших величин [1, 2, 3], т. к. при искусственном кормлении рыбы скапливается большое количество несъеденных кормов, которые приводят к накоплению неразложившегося органического вещества и ухудшению экологической обстановки [4]. Биохимическая активность микроорганизмов влияет на кислородный режим, трансформацию биогенных элементов, образование донных отложений, их характеристику и влияние на водную толщу, а также на санитарное состояние водоемов [5]. Активность свободных бактериальных ферментов зависит от их потенциальной биохимической активности, экологических факторов водоема и особенно высока в начале процесса минерализации легкоразлагаемого органического вещества [3]. Поэтому показателем начальной стадии минерализации белковых соединений могут служить и количественные данные по протеолитическим, амилолитическим и липолитическим, аммонифицирующим, нитрифицирующим, денитрифицирующим микроорганизмам, зависящие от типа водоема, антропогенной нагрузки на него и от сезона года [6,7].

Объект исследования – производственные выростные пруды Чаганского рыбопитомника Астраханской области (6 зона рыбоводства) с интенсивной (кормление) и полунинтенсивной (прикорм) технологией выращивания рыбы в поликультуре при уплотненных посадках. Контроль – вода источника водоснабжения (водоподающий канал).

Цель исследования – изучение биохимической активности воды и грунтов, а также численности бактерий-участников круговорота азота и бактерий, разлагающих белки, жиры и углеводы в водоемах с разным уровнем антропогенной нагрузки.

Для количественного учета бактерий использовались питательные среды: 1% пептонная вода (аммонификаторы), среда Виноградского (нитрификаторы 1 фазы), среда Гильтая (денитрификаторы), казеиновый агар (протеолитические), крахмальный агар (амилолитические), среда Селибера с бром-тимол-блау (липолитические).

Биохимическая активность бактериопланктона определялась по схеме Ю.И. Сорокина в модификации А.Ф. Антипчук [8].



Биохимическая активность бактериобентоса определялась: протеазная – по методу Hoffman Og. und Teicher [9]; амилазная – по методу Зобелла и Майера в модификации В.М. Багно и Д.А.Мельничука [10].

В результате проведенных исследований выявлено, что среди микроорганизмов, осуществляющих круговорот азота (табл. 1) в воде обследованных водоемов, превалировала группа аммонифицирующих бактерий. При этом минимальная численность аммонификаторов наблюдалась в начале вегетационного периода и составила в водоподающем канале 12.3 тыс. кл./мл. В прудах их количество выражалось близкими величинами 31.3 (прикорм) и 32.2 тыс. кл./мл (интенсивное кормление). По мере прогревания воды и наращивания интенсивности рыбоводного процесса число аммонификаторов достигло максимума к концу вегетационного сезона, превысив исходные показатели в 10-15 раз соответственно.

Динамика численности денитрифицирующих бактерий характеризовалась одновершинной кривой, пик которой отмечался в начале августа и совпадал с наибольшей биохимической активностью этой группы бактерий во всех изучаемых водоемах. Водоподающий канал отличался минимальным числом денитрификаторов – в среднем за сезон их количество не превысило 11.1 тыс.кл./мл, что в 2.3 раза меньше, чем в пруду с прикормом рыбы, и в 3.0 раза меньше, чем в пруду с кормлением.

Изучение количества нитрифицирующих бактерий (1 фазы) позволило выявить, что максимальная их численность отмечалась только в начале сезона (июнь) и в среднем составила 300 кл./мл. В это время во всех водоемах были самые благоприятные кислородные условия, а, как известно, процесс нитрификации происходит только в кислородной зоне [7]. К сентябрю их количество снизилось на 3 порядка. Минимальная численность – 1 кл./мл отмечалась в водоподающем канале, где в отдельные даты они вовсе отсутствовали. Среднесезонные показатели нитрификаторов в пруду с интенсивным кормлением рыбы не превысили 78.0 кл./мл, а с прикормом – 91.0 кл./мл. К концу вегетационного периода численность нитрифицирующих бактерий закономерно снижалась, т.к. они являются показателями конечных стадий разложения органического азотсодержащего вещества (табл. 1).

Таблица 1

Численность бактерий, участвующих в круговороте азота в воде обследованных водоемов

Месяц	Аммонификаторы, тыс. кл./мл			Денитрификаторы, тыс. кл./мл			Нитрификаторы, кл./мл		
	кон-троль	при-корм	корм-ление	кон-троль	при-корм	корм-ление	кон-троль	при-корм	корм-ление
Июнь	12.3	31.3	32.2	1.8	6.0	3.0	50.0	300.0	305.0
Июль	14.6	96.0	240.0	5.2	12.5	18.0	1.0	45.0	5.0
Август	17.0	176.0	420.0	26.0	52.0	86.0	–	13.0	2.0
Сентябрь	22.9	320.0	520.0	11.2	30.0	33.0	–	7.0	2.0
Средняя за сезон	16.7	155.8	303.0	11.1	25.1	35.0	13.0	91.0	78.0

При анализе полученных данных по численности бактерий, участвующих в трансформации органических веществ в обоих производственных прудах, выявлено, что среди изучаемых микроорганизмов доминировала группа амилотических бактерий, в сезонной динамике которой четко прослеживалось два пика – летний и осенний (табл. 2).

Таблица 2

Численность бактерий, участвующих в трансформации органических веществ в обследованных водоемах (тыс. кл./мл)

Месяц	Протеолитические			Амилотические			Липолитические		
	кон-троль	при-корм	корм-ление	кон-троль	при-корм	корм-ление	кон-троль	при-корм	корм-ление
Июнь	5.2	12.0	3.8	11.5	195.0	260.0	0.3	4.0	6.0
Июль	55.0	35.0	21.0	26.2	125.0	170.0	2.3	7.5	12.0
Август	125.0	75.0	45.0	16.3	110.0	150.0	2.0	6.0	7.0
Сентябрь	1.4	20.0	44.0	13.7	130.0	220.0	1.0	3.0	5.5
Средняя за сезон	5.6	32.8	72.25	17.0	140.0	200.0	1.6	5.1	7.6



Июньский пик совпадал с началом кормления рыбы, когда в прудах резко возросло количество углеводов, поступающих из комбикормов. Сентябрьский пик численности совпадал с накоплением в обследованных водоемах остатков несъеденных кормов, органического материала и отмирающего фитопланктона. Максимальное количество микроорганизмов, разлагающих углеводы, обнаружено в пруду с интенсивным кормлением – 260,0 тыс.кл./м при минимуме – 44,0 тыс. кл./мл. В пруду с прикормом амилотических бактерий было в среднем в 8,2 раза больше, чем в контроле. При этом в контрольном водоеме динамика численности этой группы микроорганизмов описывалась одновершинной кривой – с пиком в июле (26 тыс. кл./мл), когда отмечались максимальные температуры воды (28°C). Преобладание протеолитических бактерий в воде обследованных водоемов можно объяснить большим содержанием углеводов в задаваемом рыбам корме [11].

Сезонные изменения численности протеолитических бактерий характеризовались наличием одного пика – в июле. В опытных прудах, по мере увеличения кормовой нагрузки, возрастало количество микроорганизмов, разлагающих белки – в пруду с прикормом рыбы среднесезонный показатель составил 32,8 тыс. кл./мл, что в 2,2 раза меньше, чем в пруду с интенсивным кормлением. Диапазон колебаний количества протеолитических микроорганизмов в опытных прудах составил 20,0 – 55,0 тыс.кл./мл и 20,0 – 125,0 тыс.кл./мл соответственно. В контроле обнаружено не более 12,0 тыс.кл./мл. протеолитических бактерий, а их средний за сезон показатель не превысил 5,6 тыс.кл./мл, что меньше в 6 раз, чем в пруду с прикормом, и в 14 раз чем в пруду с интенсивным кормлением.

Самой малочисленной была группа липолитических бактерий, в динамике которой наблюдался один пик, совпавший с периодом наибольшего прогревания воды. В контроле количество этих бактерий не превысило 2,3 тыс.кл./мл и в среднем за сезон составило 1,6 тыс. кл./мл. В пруду с кормлением численность липолитических микроорганизмов была максимальной (12,0 тыс. кл./мл) и в среднем за сезон составила 7,6 тыс.кл./мл, что в 1,5 раза больше, чем в пруду с прикормом. Наибольшая численность липолитических бактерий во всех изучаемых водоемах приходилась на середину лета – период максимальных температур воды. Общим для всех обследованных водоемов являлось снижение численности бактерий, разлагающих белки, углеводы и жиры, к концу периода вегетации.

Изучение биохимической активности процессов нитрификации, денитрификации, аммонификации показало, что она зависела от количества бактерий, осуществляющих круговорот азота.

Так, динамика биохимической активности процесса аммонификации характеризовалась ростом интенсивности этого процесса от начала периода выращивания рыбы к середине сезона с последующим снижением (табл. 3). Анализ полученных данных показал, что в пруду с прикормом истинная аммонифицирующая активность в среднем составила 0,89 мг N/л на 1 г «энергетического» вещества, что в 1,3 раза меньше, чем в пруду с кормлением. В водоподающем канале она была еще ниже и не превысила 0,21 мг N/л.

Таблица 3

Активность процесса аммонификации в воде экспериментальных водоемов

Месяц	Истинная, мг N/л на 1 г «энергетического» вещества			Потенциальная, мг N/л на 1 г «энергетического» вещества		
	контроль	прикорм	кормление	контроль	прикорм	кормление
Июнь	0.13	0.40	0.63	47.0	178.0	140.2
Июль	0.40	1.35	1.80	55.5	160.7	179.4
Август	0.21	1.10	1.24	74.4	178.0	239.6
Сентябрь	0.08	0.71	0.92	84.4	190.9	300.0
Средняя за сезон	0.21	0.89	1.15	65.3	152.4	214.8

Потенциальная аммонифицирующая активность бактериопланктона в среднем в 218 превышала истинную, что свидетельствует о возможной интенсивной минерализации органического вещества этой группой бактерий. Среднесезонная потенциальная аммонификация составила в водоподающем канале 65,3 мг/л на 1 г «энергетического» вещества». В пруду, где рыбу прикармливали, эта величина была в 2,3 раза выше, а в пруду с кормлением – в 3,3 раза, что свидетельствует о большом содержании в них органических веществ и высокой активности гнилостной микрофлоры в этих водоемах. Необходимо



указать, что именно группа аммонифицирующих бактерий была доминирующей среди микроорганизмов, осуществляющих круговорот азота. Максимальные показатели численности аммонификаторов и их биохимической активности во всех обследованных водоемах совпали с периодом наибольших температур воды (июль – 28°C) и минимального содержания растворенного кислорода (2.2 мг/л).

Биохимическая активность процесса денитрификации протекала в обследованных водоемах достаточно интенсивно, и ее динамика совпала с динамикой аммонифицирующей активности (табл. 4). При этом максимальные и минимальные показатели истинной денитрифицирующей активности воды отмечены в пруду с кормлением, где они не превысили 1.50 мг N/л на 1 г «энергетического» вещества и 0.20 мг N/л на 1 г «энергетического» вещества, соответственно. Среднесезонная истинная денитрификация в этом водоеме составила 1.18 мг N/л на 1 г «энергетического» вещества. В пруду с прикормом процесс денитрификации шел менее интенсивно. Диапазон колебания активности этого процесса составил 0.15-0.90 мг N/л на 1 г «энергетического» вещества.

Таблица 4

Активность процесса денитрификации в воде экспериментальных водоемов

Месяц	Истинная, мг N/л на 1 г «энергетического» вещества			Потенциальная, мг N/л на 1 г «энергетического» вещества		
	контроль	прикорм	кормление	контроль	прикорм	кормление
Июнь	0.11	0.15	0.20	0.45	1.1	1.5
Июль	0.30	0.90	1.50	8.0	23.0	52.1
Август	0.36	0.51	1.25	11.3	19.0	25.0
Сентябрь	0.12	0.20	1.18	0.97	2.0	5.0
Средняя за сезон	0.22	0.44	1.03	5.4	11.3	23.4

Данные по потенциальной денитрификации бактериопланктона позволили оценить интенсивность и направленность этого процесса, которая оказалась значительно больше истинной, в среднем в 23.5 раза.

За период наблюдений истинная активность процесса денитрификации в пруду с кормлением рыбы была в 2.0 раза выше, чем в пруду, где рыбу прикармливали, и в 4.0 раза выше, чем в контрольном водоеме. Интенсивная денитрификация крайне нежелательна для водоемов по двум причинам – сокращает запасы нитратного азота, являющегося жизненно необходимым биогенным элементом для водных растений, и свидетельствует о загрязнении водоемов азотсодержащими органическими соединениями [1, 4, 6, 7, 12].

Изучение нитрифицирующей активности бактериопланктона показало, что истинная интенсивность этого процесса невелика. Она обнаруживалась только в начале вегетационного сезона и напрямую зависела от интенсивности рыбоводного процесса (табл. 5).

Таблица 5

Активность процесса нитрификации в воде экспериментальных водоемов

Месяц	Истинная, мг N/л на 1 г «энергетического» вещества			Потенциальная, мг N/л на 1 г «энергетического» вещества		
	контроль	прикорм	кормление	контроль	прикорм	кормление
Июнь	0.007	0.04	0.03	0.080	0.56	0.47
Июль	0.001	0.04	0.03	0.001	0.16	0.10
Август	0.00	0.002	0.001	0.000	0.00	0.00
Сентябрь	0.00	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
Среднее за сезон	0.002	0.020	0.015	0.022	0.18	0.14

Максимальные показатели истинной нитрификации в пруду с прикормом составили в среднем за сезон 0.18 мг N/л на 1 г «энергетического» вещества. Минимальная истинная активность нитрификации наблюдалась в водоподающем канале, где она не превысила 0.001 мг N/л на 1 г «энергетического» вещества. В пруду с кормлением истинная нитрификация варьировала от 0.001 до 0.03 до мг N/л на 1 г «энергетического» вещества.



Отмечались даты, когда определить наличие этого процесса в водоемах было невозможно. Абсолютные показатели потенциальной нитрифицирующей активности бактериобентоса были значительно выше, но закономерность их снижения, по мере увеличения антропогенного пресса (кормовой нагрузки), сохранилась. В контроле этот показатель возрос до 0.022 мг N/л на 1 г «энергетического» вещества. В пруду с прикормом диапазон колебаний этого показателя составил 0.10 – 0.56 мг N/л на 1 г «энергетического» вещества, а с кормлением – 0.10 – 0.47 мг N/л на 1 г «энергетического» вещества. При этом в июле и августе зафиксировать потенциальную активность этого процесса не удалось, что можно объяснить присутствием в это время единичных клеток нитрифицирующих бактерий в воде опытных прудов. Поэтому во всех обследованных водоемах, начиная со второй половины лета, процесс бактериальной нитрификации не обнаруживался, что свидетельствовало о накоплении в эксплуатируемых водоемах органических веществ, подавляющих ход этого процесса

Таким образом, активность процессов нитрификации, денитрификации, аммонификации зависела от количества бактерий этих групп и нормы кормления рыбы.

Изучение биохимической активности бактериобентоса рыбоводных прудов показало, что общей чертой для всех обследованных водоемов является возрастание количественных показателей как протеазной, так и амилазной активности микроорганизмов грунтов от начала лета к осени. Общая протеазная и амилазная активность донных отложений изменялась в широких пределах (табл. 6). Максимальная активность процессов минерализации белков и углеводов отмечалась в сентябре и совпадала с периодом наибольшего накопления авто- и аллохтонного органического вещества (отмирающая растительность, остатки несъеденных кормов, метаболиты гидробионтов).

Таблица 6

Биохимическая активность бактериобентоса в экспериментальных водоемах

Месяц	Протеазная активность, мг АК на 10 г влажного грунта			Амилазная активность, мг глюкозы на 10 г влажного грунта		
	контроль	прикорм	кормление	контроль	прикорм	кормление
Июнь	0.46	3.63	4.70	0.88	9.75	12.20
Июль	0.52	8.60	14.45	2.00	26.80	38.10
Август	0.40	8.90	18.82	2.23	28.85	50.90
Сентябрь	0.38	10.10	23.70	4.32	31.30	81.30
Среднее за сезон	0.44	7.60	15.41	2.33	24.25	45.62

Амилазная активность микрофлоры грунтов была выше, чем протеазная, хотя их сезонные динамики совпали и характеризовались одним пиком. В контрольном водоеме числовые показатели амилазной активности бактериобентоса не превысили 0.88 мг глюкозы на 10 г влажного грунта. Наибольших значений этот показатель достиг в пруду с интенсивным кормлением (сентябрь) – 81.30 мг глюкозы на 10 г влажного грунта, что в 2.6 раза выше, чем в водоеме, где рыбу только прикармливали. Среднесезонные показатели активности бактериальной амилазы донных отложений составили соответственно – 24.25 и 45.62 мг глюкозы на 10 г влажного грунта.

В пруду, где рыбу прикармливали, среднесезонная протеолитическая активность бактериобентоса составила 7.60 мг глюкозы на 10 г влажного грунта, что в 2.0 раза меньше, чем в пруду с интенсивным кормлением. Минимальные показатели протеазной активности микроорганизмов донных отложений отмечались в контрольном водоеме – 0.44 мг глюкозы на 10 г влажного грунта, где среднесезонный показатель не превысил 2.33 мг глюкозы на 10 г влажного грунта. Таким образом, отмечалась прямая зависимость биохимической активности грунтов обследованных водоемов от нормы кормления выращиваемой рыбы.

Таким образом, вода и грунты производственных рыбоводных прудов характеризовались высокой активностью процессов бактериальной трансформации органических соединений белковой и углеводной природы. Указанная активность возрастала по мере усиления интенсивности кормления и зависела от количества бактерий этих групп. Осо-



бенностью круговорота азота в воде обследованных водоемов с разным уровнем антропогенной нагрузки являлось сокращение количества и биохимической активности нитрифицирующих бактерий, рост числа и активности процессов денитрификации и аммонификации по мере усиления интенсивности рыбоводного процесса. Такое явление неблагоприятно для рыбохозяйственных водоемов, поскольку приводит к частичной потере азота в них, ухудшению условий обитания рыб за счет накопления аммиака. Поэтому сокращение нормы задаваемого рыбам корма за счет стимуляции развития естественной кормовой базы можно рассматривать как один из факторов регулирования, и в частности, снижения интенсивности микробиологических процессов в водоемах, где при высокой степени интенсификации происходит накопление большого количества органического вещества. При высоких летних температурах в аридных зонах наблюдается резкое возрастание окисляемости, снижение концентрации растворенного в воде кислорода и создается угроза возникновения заморных явлений.

Выявленные в воде и донных отложениях выростных прудов сезонные изменения численности бактерий, разлагающих белки, углеводы и жиры, а так же их биохимической активности необходимо учитывать при проведении интенсификационных мероприятий, поскольку увеличение антропогенной нагрузки отражается на экологическом состоянии водоемов и меняет их трофический статус. Знание закономерностей влияния микроорганизмов на продукционный потенциал рыбохозяйственных водоемов позволит оптимизировать интенсивность бактериальных процессов в целях повышения рыбопродуктивности водоемов.

Список литературы

1. Драчев С.М. Борьба с загрязнением рек, озер и водохранилищ промышленно-бытовыми стоками. – М.; Л.: Изд. АН СССР, 1964. – 274 с
2. Антипчук А.Ф., Киреева И.Ю. Водна мікробіологія. – К.: Кондор, 2005. – С. 255.
3. Артемова Т.З. Некоторые данные по изучению активности водной микрофлоры в ликвидации загрязнений зарегулированных водоемов // Вопросы санитарной бактериологии и вирусологии. – М.: Медгиз, 1965. – С. 17-26.
4. Балькин А.В., Гунцалюк Н.В., Махновский В.Т. и др. Биологическая активность бактериопланктона литорали озера Иссык-Куль при антропогенном воздействии // Изв. АН Кирг. ССР. Хим.-технол. науки. – 1987. – №3. – С. 51-55.
5. Олейник Г.Н., Старосила Е.Н. Микробиологическая характеристика водоемов с высокой антропогенной нагрузкой // Гидробиол. журн. – 2005. – №4. – С. 70-81.
6. Антипчук А.Ф. Микробиологический контроль в прудовых хозяйствах. – М.: Пищепром, 1979. – С. 81-85.
7. Дзюбан А.Н. Оценка экологического состояния водохранилищ по критериям бактериобентоса // Гидробиол. журн. – 2004. – №4. – С. 32-33.
8. Антипчук А.Ф. Микробиология рыбоводных прудов. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. – 145 с.
9. Hoffmann Og und Teicher / Zeit fur Pflausenerahrung, Dundung, Bodenkunde. –1957. – 77. – №3. – S. 243-247.
10. Багнюк В.М., Мельничук Д.А. Применение модифицированного метода Зобелла и Майера для определения амилазной активности грунтов Киевского водохранилища // Респ. конф. молодых исследователей по физиологии и биохимии растений: Тез. докл. – Киев: Урожай, 1971. – С. 60-63.
11. Бершова О.И., Багнюк В.М. Протеолитическая активность грунтов Киевского водохранилища // Гидробиол. журн. – 1970. – Т. 6, №1. – С. 23-30.
12. Рябов Ф.П., Рябова А.Д., Майстренко А.И. и др. Потенциальная протеолитическая активность воды как показатель самоочищения водоемов // Биология самоочищения и формирования качества воды. – М.: Наука., 1975. – 172 с.



BIOCHEMICAL ACTIVITY OF MICROORGANISMS OF WATER AND SOILS OF FISH-BREEDING PONDS OF ARID ZONE

I.U. Kireeva

*National Agrarian University
of Ukraine*

*Rodimtseva, 19, Kiev, 03041,
Ukraine*

*e-mail:
cde@twin.nauu.kiev.ua*

Materials of a research of bacterial biochemical activity of water and soils of fish-breeding ponds are presented as well as the quantity and seasonal dynamics of separate physiological groups of bacteria of fish-breeding ponds with the different level of intensification of fish-breeding process (intensive and semiintensive technologies of growing of fish). It is set that the specific feature of circulation of nitrogen in water of the inspected reservoirs is a reduction of amount and biochemical activity of nitrifying bacteria, growth of number and activity of processes of denitrifying and ammonifying along with strengthening of intensity of fish-breeding process. It is shown that water and soils of fish-breeding ponds were characterized by high activity of processes of bacterial transformation of organic compounds of albuminous and carbohydrate nature, which increased along with strengthening of intensity of feeding and depended on the amount of bacteria of these groups. The data obtained allow to optimize intensity of bacterial processes for the high fish production.

Key words: bakterioplankton, bakterioENTOS, ammonificators, denitrificators, nitrificators.