

Министерство образования и науки Российской Федерации  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ  
Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра микробиологии и физиологии растений

**САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ  
АНАЛИЗ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ОЗЕРА ЭЛЬТОН**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 422 группы

Направления подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Чупраковой Эллы Александровны

Научный руководитель

д-р биол. наук, доцент

\_\_\_\_\_

подпись, дата

Д.В. Уткин

Заведующий кафедрой

д-р биол. наук, доцент

\_\_\_\_\_

подпись, дата

Д.В. Уткин

Саратов 2026

**Введение.** Озеро Эльтон — бессточный солёный водоём в Прикаспийской низменности между соляными куполами. Его ценность — в бальнеологических свойствах лечебных грязей и рапы. Для использования ресурсов озера необходим микробиологический анализ бактериальных сообществ: выявление доминирующих галофилов, их структуры и состава. Грязи Эльтона относятся к иловым высокосульфидным соленасыщенным грязям материковых водоёмов с повышенным содержанием сульфидов железа и водорастворимых солей [1]. Регион обладает туристским потенциалом благодаря географическому положению, природным ресурсам и историческому наследию. На озере работает санаторий «Эльтон» — старейший бальнеогрязевой курорт России (основан в 1904 году). Основные направления лечения: заболевания суставов, кожи, органов пищеварения, нервной системы и гинекологические. Главный лечебный фактор — иловые сульфидные грязи озера [2]. Уникальность озера сопряжена с экологическими рисками: загрязнением тяжёлыми металлами, поступающими с речным стоком от точечных (промышленные предприятия, очистные сооружения) и диффузных источников (смыв с водосборной площади). Широкий спектр химических форм металлов осаждается благодаря активности сульфатредуцирующих бактерий, которые переводят растворимые соединения в нерастворимые сульфиды [3]. Кроме того, микроорганизмы окисляют двухвалентное железо в трёхвалентное [4].

С учетом этого, актуальность исследования заключалась в оценке санитарно-эпидемиологического состояния уникального природного объекта — озера Эльтон — ценного источника лечебного пелоида и рапы, выделении галофильных микроорганизмов, имеющих практическое значение.

Исходя из этого, цель исследования заключалась в проведении санитарно-микробиологического и экологического анализа рапы и лечебной грязи озера Эльтон.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Выявление санитарно-показательных микроорганизмов для оценки

безопасности использования пелоидов в лечебных целях.

2. Выделение и идентификация умеренных, экстремальных галофильных и галотолерантных микроорганизмов озера Эльтон.

3. Анализ бактериальных сообществ рапы и пелоида, соответствующих разным экологическим нишам.

4. Определение биологических свойств галофильных бактерий.

5. Определение способности выделенных бактерий к очистке жидких отходов от тяжелых металлов путем осаждения ионов металлов из сточных вод.

Идентификацию бактерий проводили на основании изучения фенотипических свойств, используя определитель бактерий «Bergey's Manual of Determinative Bacteriology» (2006) и интернет-ресурс ABIS.

Контроль видовой идентификации проводили с использованием метода MALDI-ToF масс-спектрометрии, который выполняли на приборе MALDI-масс-спектрометре серии microflex (Bruker Daltonics GmbH, Германия) специалисты ФКУН «Российский противочумный институт „Микроб“» Роспотребнадзора.

Работа изложена на 58 страницах, включает в себя список определений, обозначений и сокращений, введение, 1 раздел обзора литературы, 2 раздела собственных исследований (Материалы и методы исследования; Результаты исследований), заключение, выводы, список использованных источников. Работа проиллюстрирована 7 рисунками и содержит 11 таблиц. Список использованных источников имеет 45 наименований, из них 42 отечественных, 3 зарубежных.

**Основное содержание работы.** В разделе 1 «Обзор литературы» представлен анализ литературных данных о микробных сообществах озера Эльтон. Особое внимание уделяется санитарно-микробиологической оценке пелоида и рапы для обеспечения безопасности лечебных ресурсов. Рассматривается характеристика доминирующих галофильных микроорганизмов, их видовое разнообразие, структура сообществ и адаптации

к гиперсоленым условиям. Подчеркивается биотехнологический потенциал галофилов, включая их использование как источника ферментов, биоактивных соединений и в биоремедиации. Анализируется влияние солености на формирование уникальных микробных сообществ и их функциональные особенности. Представленные данные важны для понимания экологических аспектов устойчивого использования ресурсов озера Эльтон.

В разделе «Материалы и методы исследования» указано, что в результате проведенного выделения из образцов пелоида и рапы озера Эльтон, расположенного на территории Волгоградской области, было получено 16 штаммов бактерий.

В ходе исследования использовали следующие методы: бактериологические (культивирование микроорганизмов на агаризованных и жидких питательных средах, определение биохимических и культурально-морфологических свойств); физико-химические (фотоколориметрический метод, MALDI-ToF масс-спектрометрия).

В разделе «Результаты исследований» представлены экспериментальные данные, позволяющие комплексно оценить экологическую безопасность пелоида и рапы. На начальном этапе работы основное внимание было уделено выявлению санитарно-показательных микроорганизмов в пробах пелоида и рапы озера Эльтон. Данный анализ проводили с целью мониторинга эпидемиологического состояния акватории и исключения признаков фекального загрязнения, представляющего потенциальную угрозу для здоровья человека. Согласно полученным результатам, в исследуемых образцах не обнаружены синегнойная палочка (*P. aeruginosa*), патогенные стафилококки (*S. aureus*), лактозоположительные кишечные палочки, а также сульфитредуцирующие клостридии. Показатель общего микробного числа (ОМЧ) составил 100 000 КОЕ/г, что не превышает допустимые санитарные нормы [5].

Для более глубокого понимания структурной организации микробного сообщества озера Эльтон были проведены исследования, направленные на

выделение и культивирование галофильных микроорганизмов, являющихся его неотъемлемой частью [6]. Первоначальные попытки с использованием серийных разведений и посева на селективные среды ГРМ с 10% и 20% NaCl показали низкую интенсивность и замедленный рост микробных культур. С целью оптимизации процесса и повышения эффективности выделения галофилов был применен метод прямого посева нативного материала на агаризованные среды - желточно-солевой агар (ЖСА) по Чистовичу и среду Сегало-Гибсона с концентрациями NaCl 10% и 20%. Сравнительный анализ показал, что наиболее эффективной селективной средой для культивирования изучаемых микроорганизмов является среда Сегало-Гибсона с 20-процентным содержанием хлорида натрия. В результате на всех солесодержащих средах был выделен один вид бактерий - *Bacillus firmus*.

Дальнейшая экспериментальная часть работы была посвящена изучению динамики и состава микробных сообществ в колонках Виноградского [7]. После трёх месяцев наблюдения за колонками Виноградского была сформирована стратифицированная экосистема — вертикальные слои с разными условиями среды, в которых развиваются различные группы микроорганизмов.

Наиболее активно росли микроорганизмы из аэробной и микроаэрофильной зон. Интенсивность роста зависела от состава среды: на целлюлозном агаре, средах Эшби и ASN III рост был слабым, тогда как на средах Вильсона-Блера и №5 отмечено обильное колониобразование.

По окончании инкубации было выделено 36 штаммов микроорганизмов. В результате идентификации было установлено, что 36 штаммов принадлежат к 9 видам бактерий: *B. licheniformis*, *B. velezensis*, *B. paralicheniformis*, *B. aerophilus*, *B. amyloliquefaciens*, *Halobacillus dabanensis*, *Micrococcus aloeverae*, *B. firmus*, *Paenibacillus illinoisensis*. Среди выделенных микроорганизмов присутствовали грамположительные спорообразующие палочки и грамположительные кокки. Сахаролитическая активность выделенных штаммов была выражена хорошо. При этом они проявляли

низкую активность в отношении неорганического азота: не восстанавливали нитраты и не фиксировали молекулярный азот, эффективно усваивая лишь органические формы азота.

Исследование устойчивости к абиотическим факторам показало, что большинство штаммов умеренно толерантны к изменениям температуры, pH и концентрации NaCl.

Помимо адаптационных возможностей, важной характеристикой бактериальных сообществ являлось их потенциальная патогенность, в связи с чем следующим этапом работы стало изучение факторов вирулентности у выделенных микроорганизмов. Результаты проведённых исследований на наличие факторов патогенности показали, что положительную реакцию на желатиназную активность продемонстрировали штаммы *B. velezensis*, *M. aloeverae*, *B. firmus* и *P.illinoisensis*. Наличие лецитиназы было подтверждено только у *B. licheniformis*. В ходе дальнейшего исследования установлено, что положительный результат в тесте на ДНКазу получен для штаммов *B. licheniformis*, *B. amyloliquefaciens*, *H. dabanensis* и *M. aloeverae*. Тесты на наличие плазмокоагулазы и фибринолизина дали отрицательные результаты

Особый интерес представляло изучение сульфатвосстанавливающих признаков бактерий, участвующих в формировании терапевтических свойств пелоида [8]. В ходе экспериментального исследования было установлено, что микроорганизм *P. illinoisensis*, выделенный из пелоида, продемонстрировал выраженную сульфатвосстанавливающую активность. Это свидетельствует о его способности осуществлять диссимиляционное восстановление сульфатов до сульфидов.

Наряду с этим была исследована способность микроорганизмов влиять на окислительно-восстановительные превращения железа. Для количественной оценки данных процессов был применен фотоколориметрический анализ, основанный на измерении оптической плотности растворов  $Fe^{2+}$  и  $Fe^{3+}$ , было оценено влияние биологической

активности бактерий родов *Bacillus*, *Micrococcus*, *Paenibacillus* и *Halobacillus* на окисление железа [9].

Первоначально виды, выделенные из колонки Виноградского, тестировались на питательной среде с высокой концентрацией хлорида натрия (20%). Полученные данные, продемонстрировали высокие показатели окисления железа у двух микроорганизмов: *B. paralicheniformis* и *M. aloeverae*. (таблица 1).

Таблица 1 – Количественная характеристика окисления двухвалентного железа

Среда	Штаммы бактерий	Исходная концентрация Fe <sup>2+</sup> мг/мл	Конечная концентрация Fe <sup>2+</sup> после инкубации с бактериями, мг/мл	Концентрация Fe <sup>3+</sup> после инкубации с бактериями, мг/мл	Глубина окисления железа
№5 с20% NaCl	<i>B. licheniformis</i> YT 34	0,500	0,454 ±0,0002	0,056± 0,0002	0,13
	<i>B. velezensis</i> LOP 3	0,500	0,326±0,0003	0,188±0,0002	0,58
	<i>B. paralicheniformis</i> GT	0,500	0,277±0,0002	0,925±0,0003	3,35
	<i>B. aerophilus</i> FD5	0,500	0,366±0,0002	0,362±0,0004	1,02
	<i>B. amyloliquefaciens</i> AQ	0,500	0,587±0,0002	0,535±0,0003	0,91
	<i>H. dabanensis</i> HJ 2	0,500	0,809±0,0005	0,595±0,0003	0,75
	<i>M. aloeverae</i> PLK	0,500	0,321±0,0002	0,775 ±0,0003	2,43
	<i>B. firmus</i> JK	0,500	0,578±0,0002	0,355±0,0003	0,81
№5	<i>P. illinoisensis</i> HJ	0,500	0,454±0,0002	0,053±0,0002	0,11
	<i>B. licheniformis</i> YT	0,500	0,153±0,0002	0,021±0,0001	0,13
	<i>B. velezensis</i> LOP 3	0,500	0,091±0,0002	0,044±0,0001	0,44
	<i>B. paralicheniformis</i> GT	0,500	0,157±0,0002	0,416±0,0002	2,61
	<i>B. aerophilus</i> FD5	0,500	0,078±0,0002	0,476±0,0002	6,85
	<i>B. amyloliquefaciens</i> AQ	0,500	0,104±0,0002	0,134±0,0002	1,3
	<i>H. dabanensis</i> HJ 2	0,500	0,454±0,0002	0,655±0,0002	1,46
	<i>M. aloeverae</i> PLK	0,500	0,224±0,0002	1,075±0,0003	4,90
<i>B. firmus</i> JK	0,500	0,089±0,0002	0,043±0,0001	0,42	
<i>P. illinoisensis</i> HJ	0,500	0,135±0,0002	0,019±0,0001	0,10	

Впоследствии, для сравнительной оценки, те же виды были повторно исследованы на среде №5, не содержащей 20% хлорида натрия. Полученные данные, показали, что *B. paralicheniformis*, *M. aloeverae* и *B. aerophilus* обладают высокой способностью к окислению двухвалентного железа ( $Fe^{2+}$ ) до трехвалентного ( $Fe^{3+}$ ) (таблица 1).

В результате исследования установлено, что галотолерантные бактерии видов *B. paralicheniformis*, *B. aerophilus* и *M. aloeverae* обладают высокой способностью к окислению двухвалентного железа ( $Fe^{2+}$ ) до трехвалентного ( $Fe^{3+}$ ) независимо от степени минерализации. Это свойство делает их перспективными для применения в очистке сточных вод от растворимых солей железа [10].

### Выводы

1. В рамках санитарно-микробиологического анализа в исследуемых пробах не выявлено наличие таких патогенных и санитарно-показательных микроорганизмов, как синегнойная палочка (*P. aeruginosa*), патогенные стафилококки (*S. aureus*), лактозоположительные кишечные палочки, а также сульфитредуцирующие клостридии. Показатель общего микробного числа (ОМЧ) составил 100 000 КОЕ/г, что не превышает допустимые санитарные нормы. Полученные данные свидетельствуют о благополучном санитарном состоянии данного уникального природного объекта и подтверждают отсутствие фекального загрязнения, которое могло бы представлять угрозу для здоровья человека.

2. В исследовании нативных образцов рапы и пелоида был выявлен галотолерантный вид *B. firmus*, что указывает на его способность выживать и развиваться в условиях повышенной солености.

3. При обогащении исследуемого материала в колонке Виноградского были выделены штаммы галофильных и галотолерантных бактерий, относящихся к разным экологическим группам по отношению к кислороду. Аэробные виды включали *H. dabanensis*, *B. licheniformis*, *B. amyloliquefaciens*,

*M. aloeverae* и *B. firmus*. Микроаэрофильные виды были представлены *B. velezensis*, *B. paralicheniformis*, *B. aerophilus* и *P. illinoisensis*. Все выделенные штаммы являются аминокетотрофами.

4. Виды *B. paralicheniformis*, *B. aerophilus*, по отсутствию факторов патогенности для животных, могут быть рекомендованы для микробиологической очистки жидких отходов от тяжелых металлов.

5. Выявлено, что *P. illinoisensis* проявляет значительную сульфатвосстанавливающую активность, осуществляя диссимиляционное восстановление сульфатов до сульфидов, что может играть роль в формировании иловых высокосульфидных соленасыщенных лечебных грязей.

6. Установлено, что галотолерантные бактерии видов *B. paralicheniformis*, *B. aerophilus* и *M. aloeverae*, обладают высокой способностью к окислению двухвалентного железа ( $Fe^{2+}$ ) до трехвалентного ( $Fe^{3+}$ ) независимо от степени минерализации, что позволяет использовать их для очистки сточных вод от растворимых солей железа.

#### Список использованных источников

1 Монилова, С. Н. Историко–географическая уникальность озера Эльтон / С. Н. Монилова, А. В. Судакова // Псковский регионологический журнал. – 2011. – № 12. – С.113–126.

2 Перфильева, В. С. Перспективы развития лечебно–оздоровительного туризма в Волгоградской области / В.С. Перфильева // Актуальные проблемы науки и техники. – 2022. – С. 45 – 46

3 Папина, Т. С. Транспорт и особенности распределения тяжёлых металлов в ряду: вода – взвешенное веществ – донные отложения речных экосистем / Т.С. Папина // Экология. – 2001. – 58 с.

4 Гуреева, М.В. Экология микроорганизмов / М.В. Гуреева, М.Ю. Грабович. – Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2021. – 105 с.

5 МУ 143–9/316–17 Методические указания по санитарно–микробиологическому анализу лечебных грязей. утв. Главным

государственным санитарным врачом СССР 11 сентября 1989 г. – 1989. – 17 с.

6 Галофильные бактерии солёных озёр и солончаковых почв Прикаспийской низменности (Республика Дагестан) и их биотехнологический потенциал / Э. А. Халилова [и др.] // Вавиловском журнале генетики и селекции. – 2021.– Т. 25, № 2. – С. 224–233.

7 Брызгова, К.А. Экологическая оценка состояния водоемов г.Москвы методом моделирования микробных сообществ в колонках Виноградского / К.А. Брызгова, Т.Е. Денисенко // Сборник трудов конференции. – 2023. – С. 523 – 525

8 Франк, Ю. А. Выделение и изучение сульфатредуцирующих бактерий из экосистем, подверженных влиянию металлургических предприятий: дис. ...канд. биол. наук / Ю.А. Франк. – Томск, 2006. – 152 с.

9 Собгайда, Н. А. Фотоколориметрический метод определения ионов тяжёлых металлов в растворе: методические указания к выполнению лабораторной работы по дисциплинам Экологический мониторинг, Технические средства и технология контроля источников загрязнения / Н. А. Собгайда, Е.А. Данилова. – Саратов: Саратовским гос. техническим ун-том, 2010. – 28 с.

10 Буракаева, А.Д. Роль микроорганизмов в очистке сточных вод от тяжёлых металлов / А. Д. Буракаева, А. М. Русанова, В. П. Лантуха. – Оренбург: Оренбургский государственный университет, 1999. – 53 с.