

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ
МІСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

до виконання лабораторних робіт з курсу

«Мікробіологія»

(для студентів 4, 5 курсів заочної форми навчання напряму
6.060103 «Гідротехніка (Водні ресурси)», 0926 «Водні ресурси»)

Методичні вказівки до лабораторних робіт з курсу «Мікробіологія» (для студентів 4, 5 курсів заочної форми навчання напряму 6.060103 «Гідротехніка (Водні ресурси)», 0926 «Водні ресурси») / Харк. нац. акад. міськ. госп-ва; упорядн.: Л. І. Дегтерева. – Х.: ХНАМГ; 2009. – 27 с.

Упорядник: Л. І. Дегтерева

Рецензент: доц., к.т.н. К. Б. Сорокіна

Рекомендовано кафедрою водопостачання, водовідведення і очищення вод,
протокол № 1 від 28.08.2009 р

Зміст

	<i>Стор</i>
<i>Лабораторна робота 1. Індикаторні організми</i>	4
<i>Лабораторна робота 2. Самоочищення водойм. Зони сапробності.....</i>	16
<i>Лабораторна робота 3. Біологічний аналіз активного мулу та біоплівки</i>	22

Лабораторна робота 1

Індикаторні організми.

Бактерії. Бактеріям належить провідна роль у процесах мінералізації органічної речовини. Крім цього бактерії виконують роль біоіндикаторів забруднення води. Найбільш показовими в цьому плані є деякі нитчасті та колоніальні форми. З колоніальних форм в водоймах та очисних спорудах широко поширена *Zoogloea ramigera* (рис.1). Колонія цих бактерій являє собою більш-менш розгалужену сукупність однорідних паличкоподібних клітин. Кожна паличка оточена слизовою капсулою, завдяки чому клітини повністю не зліплюються одна з одною.

Серед нитчастих форм бактерій до показових організмів відносяться сіркоокислюючі (рис.5(7)) та деякі тіонові бактерії, а також бактерії роду *Sphaerotilus* (рис.2(3)). Сіркоокислюючі бактерії мають вигляд товстих ниток, поділених перетинками, причому перетинки не завжди помітні. Вони зустрічаються в водах, які містять сірководень. При надлишку сірководню усередині ниток відкладаються блискучі краплинки елементарної сірки. При недостатчі сірководню сірка окислюється до сульфатів, а блискучі краплинки в тілі бактерій зникають.

Нитчасті бактерії *Sphaerotilus natans* та *Sphaerotilus dichotoma* мають вигляд дуже тонких, сплетених ниток. Необхідно навчитись відрізняти їх від грибів. Основна відміна полягає в тому, що бактерії ніколи не мають справжнього розгалуження. Розгалуження ниток, що спостерігається, пояснюється тим, що при розмноженні нитчастих бактерій від них відщиплюються здатні рухатися клітинки гонідії. Вони можуть прикріплюватися до материнської нитки та проростати. При цьому виходить, так зване, псевдорозгалуження. Його можна легко виявити, проглядаючи препарат в об'єктив 40. Справжні розгалуження грибів та псевдорозгалуження нитчастих бактерій показане на рис.2.

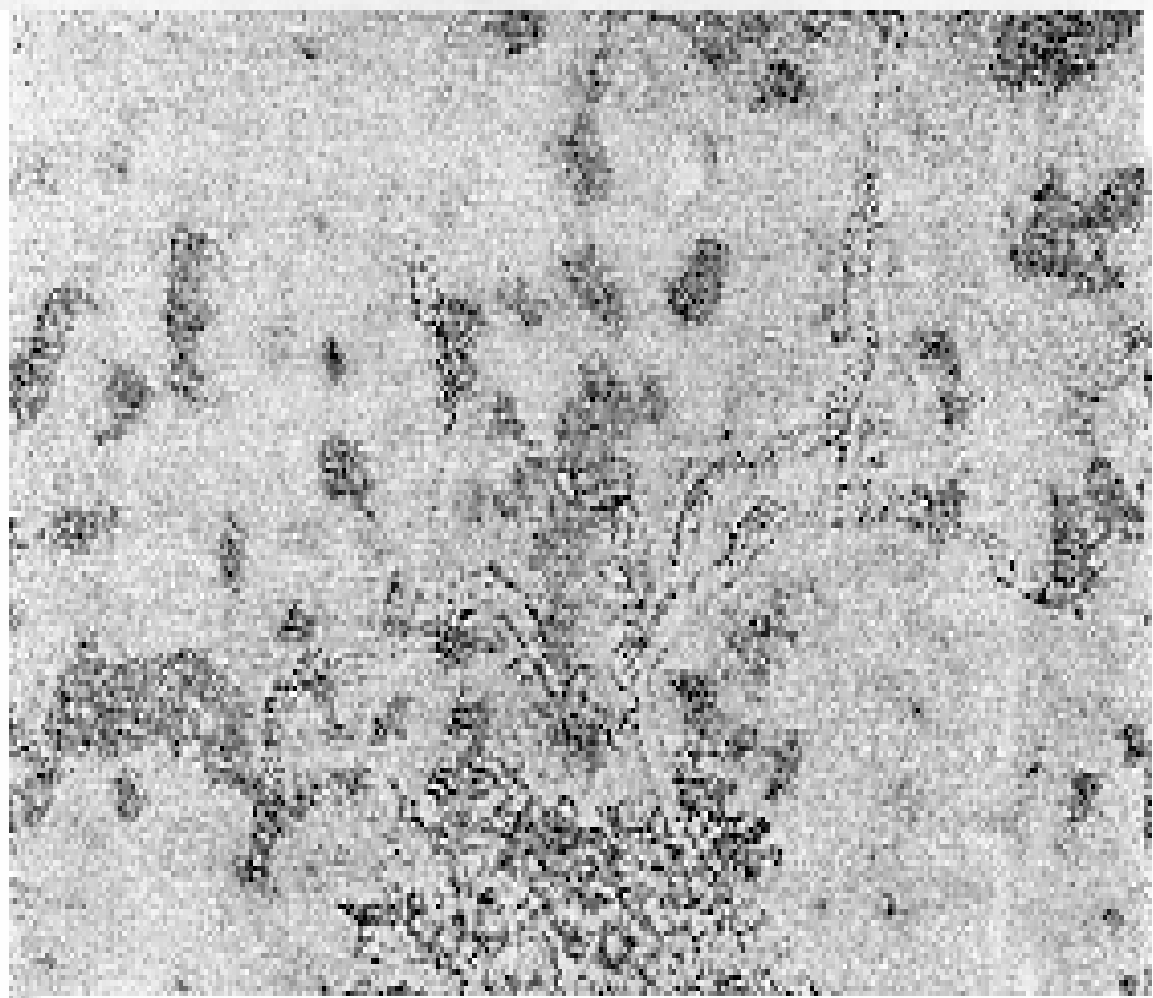


Рис.1
Zoogloea ramigera

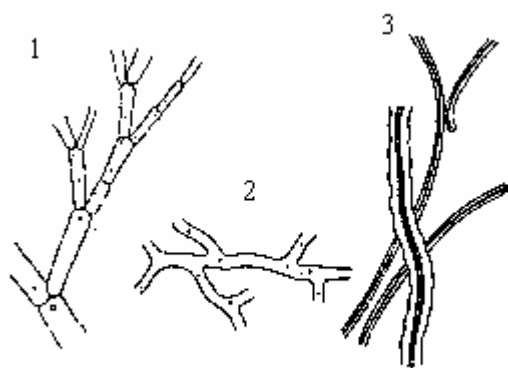


Рис. 2 Розгалуження грибів та нитчастих бактерій

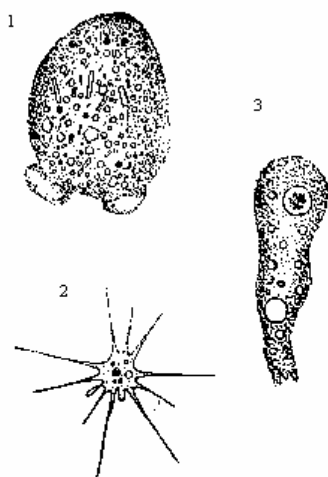


Рис.3

- 1-*Pelomyxa palustris*
- 2-*Amoeba radiosa*
- 3-*Amoeba limax*

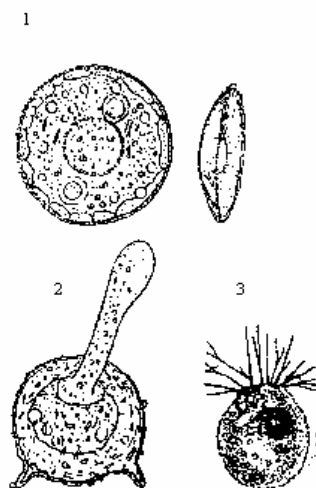


Рис.4

Раковинні корненожки

- 1-*Arcella discoidea*
- 2-*Centropyxis aculeata*
- 3-*Pamphagus hyalinus*

Sphaerotilus є активним мінералізатором органічної речовини і відіграє важливу роль у процесах самоочищення водойм. На очисних спорудах, особливо в аеротенках, вплив цього організму -негативний.

Окремі нитки *Sphaerotilus* можуть знаходитись і в нормально працюючому активному мулі, але їх надмірний розвиток заважає осаджуванню мулу. Утворюється так званий "спухаючий мул", внаслідок чого спостерігається підвищення його виносу.

Концентрація активного мулу в аеротенку при цьому зменшується. Іншою причиною спухання активного мулу може бути розвиток *Leuconostoc*, який належить до молочнокислих бактерій. Звичайно *Leuconostoc* розвивається на стоках, в яких багато вуглеводів та мало органічних форм азоту. В такому разі у *Leuconostoc* утворюється дуже велика слизова капсула, що складається з полісахаридів. Капсула перешкоджає утворенню компактного хлопка активного мулу.

Розвиток нитчастих бактерій та *Leuconostoc* перешкоджає нормальній роботі аеротенка.

Гриби. Гриби в рідкому середовищі звичайно не утворюють плодових тіл, тому їх класифікація без спеціального вивчення майже неможлива. В водоймах іноді у великій кількості розвивається гриб *Leptomitus*, який засмічує очисні ґратки водопровідних станцій. *Leptomitus mai* дуже характерну будову організму (рис. 6(2)). Розмножується гриб вегетативним способом шляхом розриву нитки у вузькому місці. Пробка, яка міститься в клітині, затуляє місце розриву та перешкоджує витіканню протоплазми.

Від бактерій гриби відрізняються наявністю справжнього міцелія, а від водоростей - відсутністю пігменту.

При масовому розвитку в тілі біофільтра гриби затруднюють проходження рідини крізь біофільтр. В аеротенку масовий розвиток грибів призводить до спухання активного мулу. З цієї причини розвиток грибів на очисних спорудах небажаний, незважаючи на те, що вони більш сильні мінералізатори, ніж бактерії. Слід зауважити, що останнім часом з'явилися роботи, в яких приведені дані по очищенню стічних вод в аеротенку за допомогою грибів.

Водорості. В процесах самоочищення забруднених водойм найважливіша роль належить зеленим протококовим водоростям. Вони збагачують воду киснем, необхідним для мінералізації органічних речовин. Через те, що водорості є антагоністами бактерій, вони сприяють загибелі патогенних мікроорганізмів.

Водорості - основний агент очищення стічних вод в біологічних ставках. В присутності значної кількості органічних речовин більшість водоростей переходить до гетеротрофного типу живлення, що безпосередньо сприяє мінералізації органічних речовин.

В аеротенках водорості зустрічаються рідко. В хлопку активного мулу можуть знаходитись зелені, синьозелені та діатомові водорості. На біофільтрах водорості зустрічаються більш часто, ніж в аеротенках і відіграють значну роль в процесах очистки. Водорості легко ідентифікуються завдяки наявності зеленого пігменту.

Найпростіші. З найпростіших до показових організмів відносяться представники таких класів: саркодові (*Sarcodina*), джгутикові (*Mastigophora*), ійчасті інфузорії (*Ciliata*) та сисні інфузорії (*Suctoria*).

Саркодові. З численного класу саркодових найбільш значний інтерес представляють, так звані, кореніжки. Таку назву вони одержали через те, що їхнє тіло здатно випускати псевдоніжки або псевдоподії, які служать для пересування й прийняття їжі. Внутрішнього скелету вони не мають, але може бути зовнішній - тіло буває одягнуто хаткою.

Кореніжки, які не мають хатки, зуться голими. З голих кореніжок до індикаторних належать представники роду амеба та пеломікса. Пеломікса відрізняється від звичайних амеб розмірами (до 2 мм) та широколопатовими псевдоподіями. Плазма її містить "блискучі тільця" й паличкоподібні вкраплення. *Pelomyxa palustris* розвивається у великій кількості в забруднених водах (рис. 3(1)).

Рід *Amoeba* має дуже велике число видів. Частину їх важко ідентифікувати. Від пеломікса амеби відрізняються відсутністю включень та блискучих тілець.

Amoeba limax (рис.3(3)) ї показником поганої очистки. Поява в активному мулі *Amoeba radiosa* (рис.3(2)) є показником якісної очистки. Поява в аеротенку великої кількості дрібних амеб - погана ознака. Звичайно це буває при перевантаженні очисних споруд. Значна кількість великих амеб зустрічається у нормально працюючому мулі.

Раковинні кореніжки (форамініфери) характеризуються наявністю хатки, що утворена або тільки з органічної речовини, або просоченої кремнієм, залізом або кальцієм. З раковинних кореніжок до показових організмів, які найчастіше зустрічаються, відносяться: *Arcella*, *Centropyxis*, *Pamphagus*.

Arcella відрізняється формою раковинки, яка складається з шестигранних комірок. Структуру будиночка добре видно під мікроскопом (рис.4(1)). *Centropyxis* мають округлу зплющену раковинку. Раковинка забарвлена в бурий колір та покрита пластівцями з кремнію (рис.4(2)). *Centropyxis aculeata* та *Centropyxis laevi gata* зустрічаються в добре працюючих очисних спорудах. У *Pamphagus* раковинка утворена тільки з органічної речовини. Вона скловидна, не має структури, прозора, еластична (рис.4(3)). *Pamphagus hyalimes* зустрічається при поганій роботі очисних споруд.

Джгутикові. (Mastigophora). Поява значної кількості дрібних джгутикових завжди свідчить про погіршення роботи очисних споруд. Звичайно це пов'язано або з нестачею кисню, або з перевантаженням споруд. З безбарвних джгутикових найчастіше зустрічаються представники роду *Oicomonas*, які мають один плавальний джгутик, а також роду *Vodo* (рис.5(1)), які мають два джгутики, один з яких плавальний, а другий - рульовий. Рульовий джгутик спрямований назад. Великі джгутикові форми *Peranema*, що зустрічаються на очисних спорудах, не відносяться до безбарвних джгутикових, тому що відсутність хлоропластів є для неї другорядною ознакою.

Війчасті інфузорії (Ciliata). До цього класу відноситься більшість показових організмів. Інфузорії мають складну будову. Їжа приймається ротом, який має назву "цитостом". Війчасті інфузорії розподіляють на три загони:

1) у *Holotricha* біляротові вії не мають спірального розташування. Все тіло, або більша частина його, укрите війками;

2) *Spirotricha* мають біляротову спіраль з мембранел, яка закручена вправо. На іншій частині тіла в більшій або меншій мірі зберігається війчастий покрив;

3) *Peritricha* -біляротова спіраль з війок закручена вліво. На іншій частині тіла війок немає. Тіло може скорочуватись. Більшість - прикріплені форми.

Загін *Holotricha* (рівновійчасті) розподіляється на 3 підзагони:

1. Підзагін *Gymnostomata*. Ротовий отвір розміщений на поверхні або в заглибленні, яке не має спеціалізованої війчастої апаратури.

Глотка, якщо вона є, не має війок.

Рот звичайно відкривається тільки під час прийняття їжі. Їжа ковтається. Усі форми, які мають хоботок, *Lionotus*, *Amphileptus*, *Dileptus*, *Tracheoleptus* (рис.6(3,5)), відносяться до цього підзагону. Всі вони є хижаки.

Відрізняються вони відносними розмірами тіла та хоботка, розташуванням війок, місцем знаходження рота. Поява цих форм у великій кількості свідчить про те, що очисні споруди працюють погано. Ї є винятки: наприклад, *Lionotus fasciola* звичайно зустрічаються в добре працюючому мулі, а *Dileptus anser* - в чистих водоймах. До цього підзагону відносяться *Chilodon* (рис.6,7,8). Це дрібні форми. Їх тіло рівномірно вкрите рядами війок. Це звичайні мешканці полісапробної та -мезосапробної зони. При поганій роботі очисних споруд вони з'являються в значній кількості.

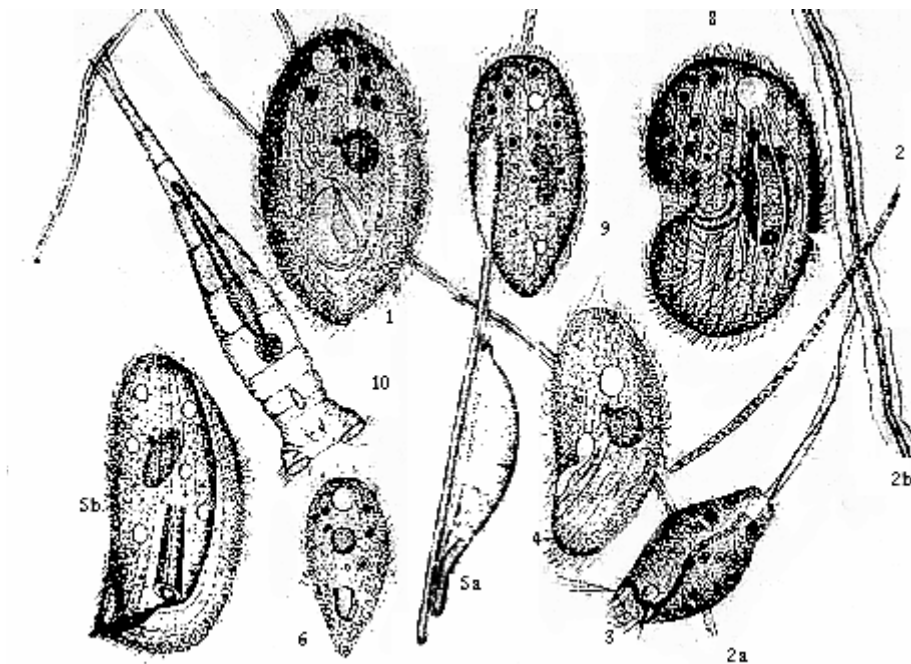


Рис.5

2, 2a, 2b - *Sphaerotillus na* **1** - *Glaucoma scintillans tans*; **3** - *Vorticella microstoma*; **4** - *Colpidium colpoda*; **5, 5a, 5b** - *Chilodonella cuclullus*; **6** - *Glaucoma pyriformis*; **7** - *Beggiatoa pyriformis*; **8** - *Tillina magna*; **9** - *Paramaecium purtinum*; **10** - *Rotatoria*

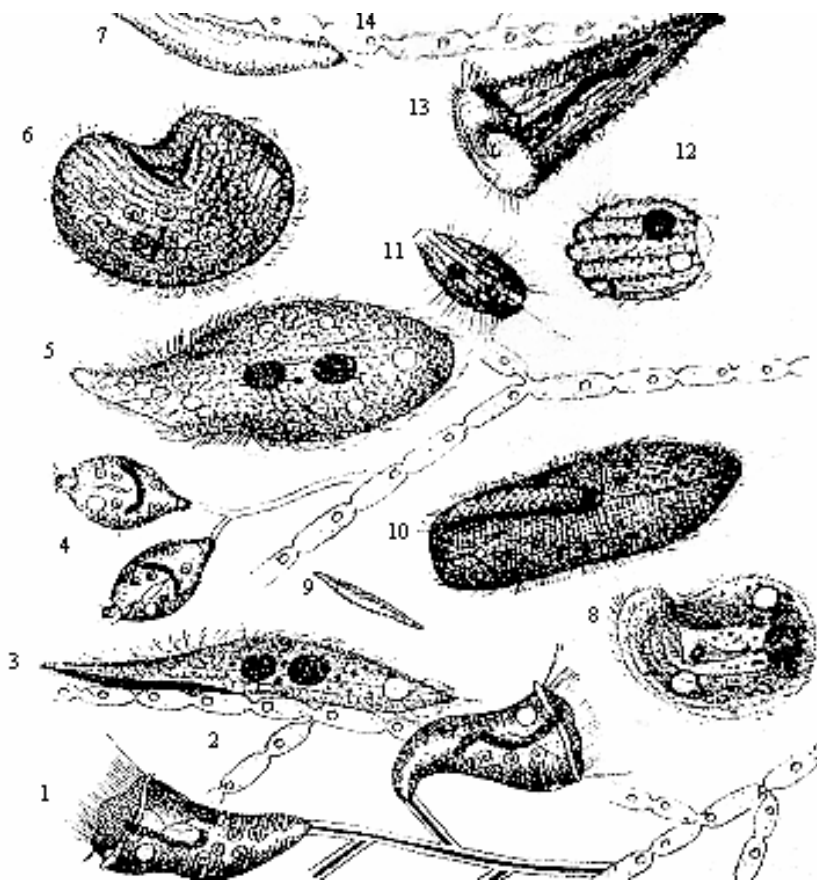


Рис.6

1 - *Carchesium polypinum*; 2 - *Leptomitus lacteus*; 3 - *Lionotus fasciola*;
 4 - *Opercularia coarctata*; 5 - *Amphileptus claparedei*; 6 - *Colpoda cucullus*;
 7 - *Chilodonella cuculullus*; 8 - *Chilodonella uncinata*; 9 - *Nitzschia palea*;
 10 - *Paramecium caudatum*; 11 - *Uronema marinum*; 12 - *Platynema sociale*;
 13 - *Stentor coeruleus*; 14 - *Sphaerotilus natans*.

2. Підзагін *Trichostomata* характеризується тим, що ротовий отвір розміщений в глибині вкритого війками біляротового поля (перистом). Глотка має вії. Рот завжди відкритий. Їжа осідає в глибині перистома або глотки. До цього підзагону відносяться *Paramecium caudatum* (інфузорія-туфелька) (рис.6(10)) та *Colpoda*. Вони в незліченній кількості розвиваються в забруднених водоймах. В активному мулі з'являються при погіршенні роботи споруди, при перевантаженні та недостатчі кисню тощо.

3. Підзагін *Hymenostomata* відрізняється від попереднього наявністю ундулюючих мембран, котрі розташовані по краю перистома, рота або глотки. Типові седиментатори.

Представники цього підзагону *Glaucota* (рис.5(11)) та *Colpidium* (рис.5(4)) зустрічаються звичайно в забруднених водоймах. Поява їх в значній кількості в активному мулі - погана ознака.

Cyclidium, які також відносяться до цього виду, навпаки, свідчать про добру роботу очисних споруд. *Cyclidium* мають довгі і дуже тонкі вії, а в кінці тіла від 1 до 7 дотикових щетинок (рис. 6(15)).

Загін *Spirotricha* (спіралевійчасті). Представники цього аґону мають біляротову спіраль, яка закручена вправо. Будова ротового апарату залежить від способу живлення: всі *Spirotricha* типові седиментатори. Війчастий апарат у них має складну будову і доволі різноманітну. Загін складається з кількох підзагонів. Систематика спіралевійчастих базується на розташуванні війчастого покриву.

Представники *Spirotricha*, які зустрічаються на очисних спорудах, відносяться значною частиною до черевовійчастих інфузорій. У черевовійчастих тіло зплющено у спиночеревному напрямку.

Війчастий покрив на череві складається з цирій (цупкі щетинки, які сформувались внаслідок злиття кількох війок). На спинній стороні знаходяться тільки тендітні, слабопомітні, малорухливі чутливі щетинки.

Систематизують цей підзагін за розположенням та диференціюванням цирій (рис.7).

1. **Лобні, або фронтальні.** Вони знаходяться на лобному полі, тобто між перистомом та правим краєм тіла.

2. **Черевні.** Знаходяться позаду рота на черевній поверхні рядами або розкидано.

3. **Крайові.** Знаходяться тісними рядами (паралельними) з обох країв тіла.

4. **Поперечні.** Утворюють відокремлені поперечні групи поблизу заднього кінця тіла. Іноді вони ідуть трохи навскіс вліво. Їх називають також анальними рядами.

5. **Хвостові**. Знаходяться на самому дальньому кінці тіла. Вони дуже подовжені та спрямовані назад.

До цього підзагону належать також *Oxytricha*, *Stylonichia*, *Euplotes*, *Aspidisca* (рис.8). *Oxytricha* та *Smylonichia* мають добре виражені бокові ряди цирій. Вони мають подовженоовальне тіло. Лобних цирій - 8, черевних -5. Присутність в активному мулі *Oxytricha*, *Stylonichia*, *Euplotes*, *Aspidisca* є ознакою нормально працюючого мулу.

Загін *Peritricha* (круговійчасті). Всі *Perytricha*, як і *Spirotricha*, живляться способом осаджування, але біляротова спіраль у них закручена вліво. Більшість з них веде прикріплений спосіб життя. Вони прикріплюються до субстрату або безпосередньо, або за допомогою стебельця. Рух скорочувальний. В одних форм скорочується тіло, яке сидить на стебельці, у інших - стебельце, завдяки наявності внутрішньої скорочувальної нитки.

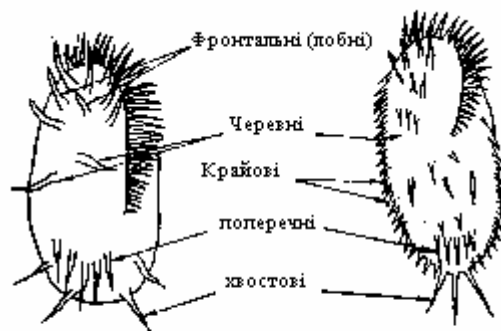


Рис.7

**Схема розраштування цирій у черевовійчастих інфузорій.
Цирії *Spirotricha***

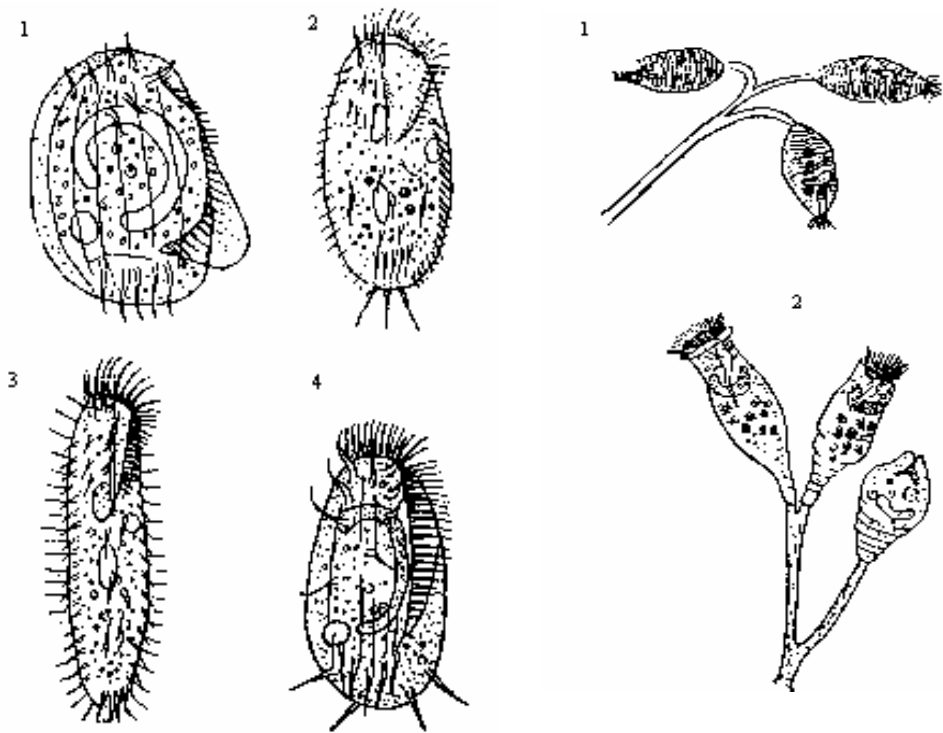


Рис. 8 Черевонітчасті інфузорії
 1 - *Aspidiaka costata*; 2 - *Stilonichia pustulata*; 3 - *Oxytricha pellionella*; 4 -
Euplotes charon

Рис. 9
 1 - *Opercularia*
 2 - *Epistylis plicatilis*

На очисних спорудах часто зустрічаються *Opercularia*, *Epistylis*, *Rhabdostyla*, *Vorticella*, *Carchesium*, *Zoothamnium*. Систематизують їх у більшості випадків за побудовою стебельця і перистома. *Epistylis*, *Opercularia* (рис.9) та *Rhabdostyla* мають нерозгалужене коротке стебельце. Перистом оточений крайовим валком. Диск перистома плоский та широкий, не звужений у нижній частині.

У *Epistylis* стебельце являє собою дихотомічно розгалужене деревце. *Opercularia*, як і *Epistylis* має розгалужене стебельце без скорочувальної нитки, але будова перистома в неї інша. Перистом не має крайового валка. Диск маленький, видвинутий доверху. Нижня частина його витягнута та звужена наче в ніжку. *Vorticella* (сувойки) (рис.10 та 12(12)), *Zoothamnium* та *Carchesium* рис.6(1) мають стебельце, яке містить скорочувальну нитку. *Vorticella* - поодинокі форми, а *Zoothamnium* та *Carchesium* - колоніальні. Різниця між ними полягає в тому, що у *Carchesium* скорочувальні нитки окремих гілок не

з'єднані між собою, тому кожна особина в колонії може скорочуватись самостійно. В колоніях *Zoothamnium* скорочувальна нитка спільна і тому подразнення однієї особи призводить до скорочування всієї колонії.

Видова диференціація згаданих організмів іноді буває дуже складною. Особливо це стосується вортицел. Але це необхідно, бо деякі з видів (*V.alba*, *V.microstoma*) свідчать про погану роботу очисних споруд, а інші (*V.convallaria*, *V.nebulifera*) - про добру (рис.10).

Клас сисних інфузорій - (Suctoria). Сисні інфузорії не мають війок. Більшість з них веде прикріпленій спосіб життя. У сукторії є спеціальні смоктальні щупальця, потовщені на кінцях. Цими щупальцями сукторії здатні утримувати та висмоктувати жертву. На очисних спорудах сукторії присутні у перевантаженому мулі. Це *Podophrya Tokophrya*.

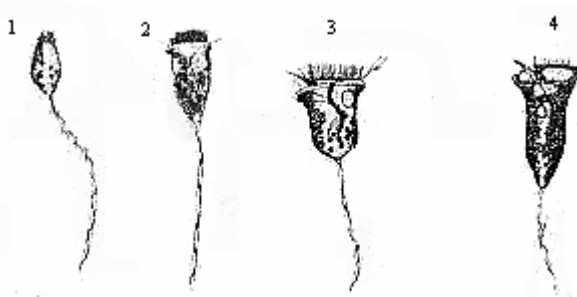


Рис.10
Різні види сувоїок

Завдання на лабораторну роботу:

1. Продивитись та замалювати препарати нитчастих бактерій, грибів та водоростей.

2. Визначити за описом представників джгутикових та інфузорій в активному мулі.

Лабораторна робота 2.

Самоочищення водойм. Зони сапробності.

Сапробність - це сукупність фізіологічних властивостей даного організму, який зумовлює його спроможність розвиватися у воді з тим чи іншим вмістом органічних речовин, тим чи іншим ступенем забруднення.

При надходженні стічних вод в проточні водойми в них виникають послідовно такі зони забруднення:

- ◆ полісапробна (дуже забруднена);
- ◆ альфа-мезосапробна (значно забруднена);
- ◆ бета-мезосапробна (помірно забруднена);
- ◆ олігосапробна (слабо забруднена).

Полісапробна зона (р) відзначається значним вмістом нестійких органічних сполук та наявністю продуктів анаеробного розпаду (метан, сірководень).

Кисню немає, багато органічного детриту, проходять відновні процеси, залізо знаходиться у формі FeS, мул має чорне забарвлення із запахом сірководню. В цій зоні розвиваються рослинні організми з гетеротрофним типом живлення: сапрофітні бактерії, нитчасті бактерії (*Sphaerotilus*), сіркобактерії (*Beggiatoa*, *Thiothrix*), бактерії зооглеї (*Zoogloea ramigera*), з найпростіших - інфузорії, безбарвні джгутикові (рис.11).

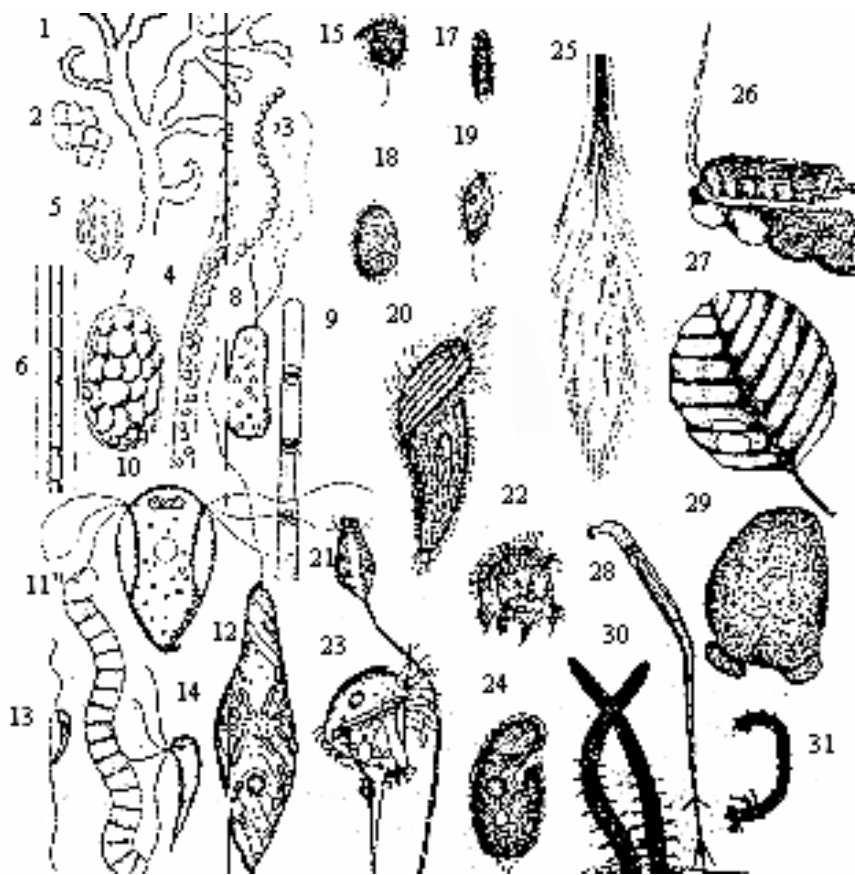


Рис.11

Організми полісапробної зони

- 1** - *Zoogloea ramigera*; **2** - *Sarcina paludosa*; **3** - *Streptococcus margaritaceu*;
4 - *Beggiatoa alba*; **5** - *Chlorobacterium aggregatum*; **6** - *Sphaerotilus natans*;
7 - *Achromatium oxaliferum*; **8** - *Chromatium okenii*; **9** - *Oscillatoria putrida*;
10 - *Trigonomonas compressa*; **11** - *Spirulina Jenneri*; **12** - *Euglena viridis*;
13 - *Bodo purinus*; **14** - *Tetramitus pyriformis*; **15** - *Hexotricha caudata*;
17 - *Encelys vermicularis*; **18** - *Glaucoma scintillans*; **19** - *Trimyema compressa*;
20 - *Metopuses*; **21** - *Vorticella microstoma*; **24** - *Colpidim colpoda*;
25 - *Sphaerotilus natanrs*; **26** - Личинка *Eristalis tenax*;
27 - *Lamprocystis roseopersicina*; **28** - *Rotaria neptunia*; **29** - *Pelomyxa palustris*;
30 - *Tubifex rivulorum*; **31** - *Chironomus thummi*.

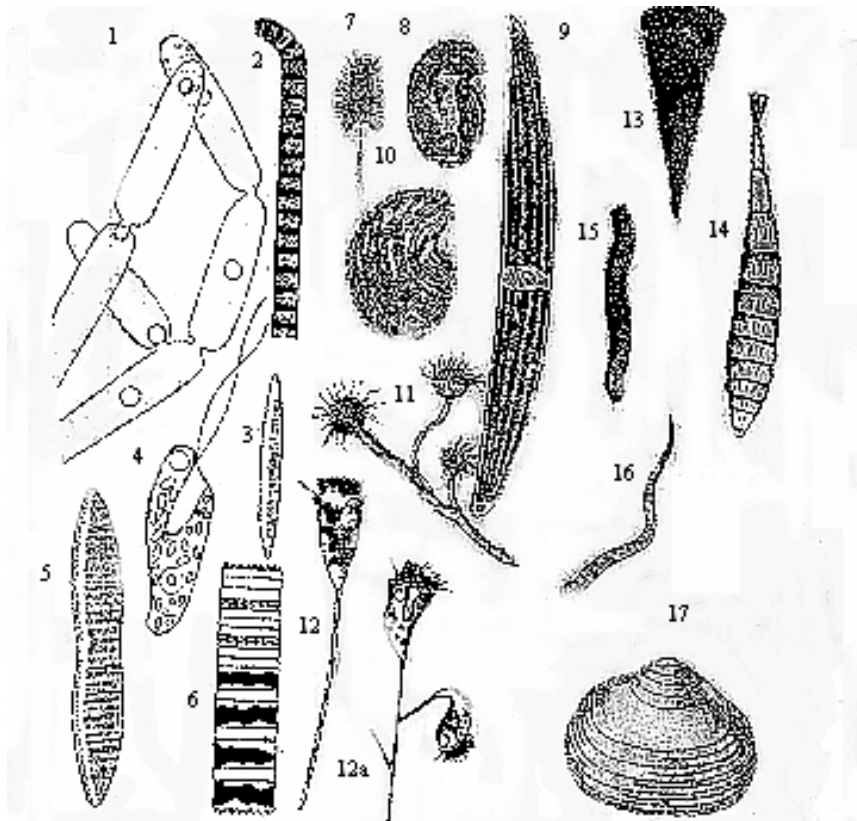


Рис.12. Організми β -мезосапробної зони

- 1 - *Leptomitius lacteus*; 2 - *Oscillatoria formosa*; 3 - *Nitzschia palea*;
 4 - *Chilomonas paramaecium*; 5 - *Hantzschia amphioxys*;
 6 - *Stephanodistus hantzschii*; 7 - *Uronema marinum*; 8 - *Chilodonella uncinata*;
 9 - *Closterium acerosum*; 10 - *Colpoda cucullus*; 11 - *Anthophysa vegetans*;
 12 - *Vorticella convallaria*; 12a - *Carchesium polypinum*; 13 - *Stentor coeruleus*;
 14 - Личинка *Stratiomys*; 15 - *Spirostomuni ambiguum*;
 16 - *Herpobdella atomaria*; 17 - *Sphaerium corneum*

Альфа-мезосапробна зона. В цій зоні починається аеробний розпад органічних речовин з утворенням аміаку, є багато вільної вуглекислоти, кисень присутній в незначній кількості.

В воді та донних відкладеннях проходять окислювально-відновні процеси, залізо - в закисній та окисній формах, мул має сірувате забарвлення. Розвиваються організми, стійкі до нестачі кисню і значного вмісту вуглекислоти. Переважають рослинні організми з гетеротрофним та міксотрофним живленням. Деякі організми набувають масового розвитку. Буйно розвиваються бактеріальні зооглеї, нитчасті бактерії, гриби, з водоростей - осциляторії, стигеоклоніум. З тваринних організмів рясні обростання інфузоріями (*Carchesium*), зустрічаються коловертки

(*Brachionus*), мало забарвлених та безбарвних джгутикових. У мулі присутня значна кількість тубифіцид та личинок хирономид (рис.12).

Бета-мезосапробна зона (-m) відмічається в водоймах, що майже звільнилися від нестійких органічних речовин, розпад яких досягнув повної мінералізації. Концентрація кисню та вуглекислоти коливається протягом доби. Вдень вміст кисню в воді доходить до насичення і вуглекислота може повністю зникати. Вночі спостерігається дефіцит кисню в воді. В мулі, який має жовте забарвлення, інтенсивно протікають оксидаційні процеси. В цій зоні велика кількість різноманітних тваринних та рослинних сапробіонтів з автотрофним типом живлення. Вода цвіте фітопланктоном. У мулі знаходяться багато видів червів, молюски (рис.13).

Олігосапробна зона (o) притаманна практично чистим водоймам з незначним вмістом нестійких органічних речовин та продуктів їх мінералізації. Концентрація кисню та вуглекислоти практично однакові вдень і вночі. Цвітіння водорості, як правило, немає. Олігосапроби - квіткові рослини (напр. латаття біле), з тварин - коловертки, молюски, ракоподібні (*Daphnia*), комахи, риби (стерлядь, форель). Показниками чистої води в цій зоні є деякі червоні водорості (*Thorea, Batrachospermum*) та водяні мохи (рис. 14).

Окремі індикаторні організми, взяті ізольовано, не можуть в достатній мірі охарактеризувати ступінь забруднення вод. Наприклад, під час розкладання білку в господарсько-побутових стоках накопичується сірка, внаслідок чого в таких водах в достатку зустрічаються сіркобактерії р.р.*Beggiatoa* та *Thiothrix*. Разом з тим, вказані бактерії живуть також в мінеральних сірчаних джерелах, які не містять органічних забруднень.

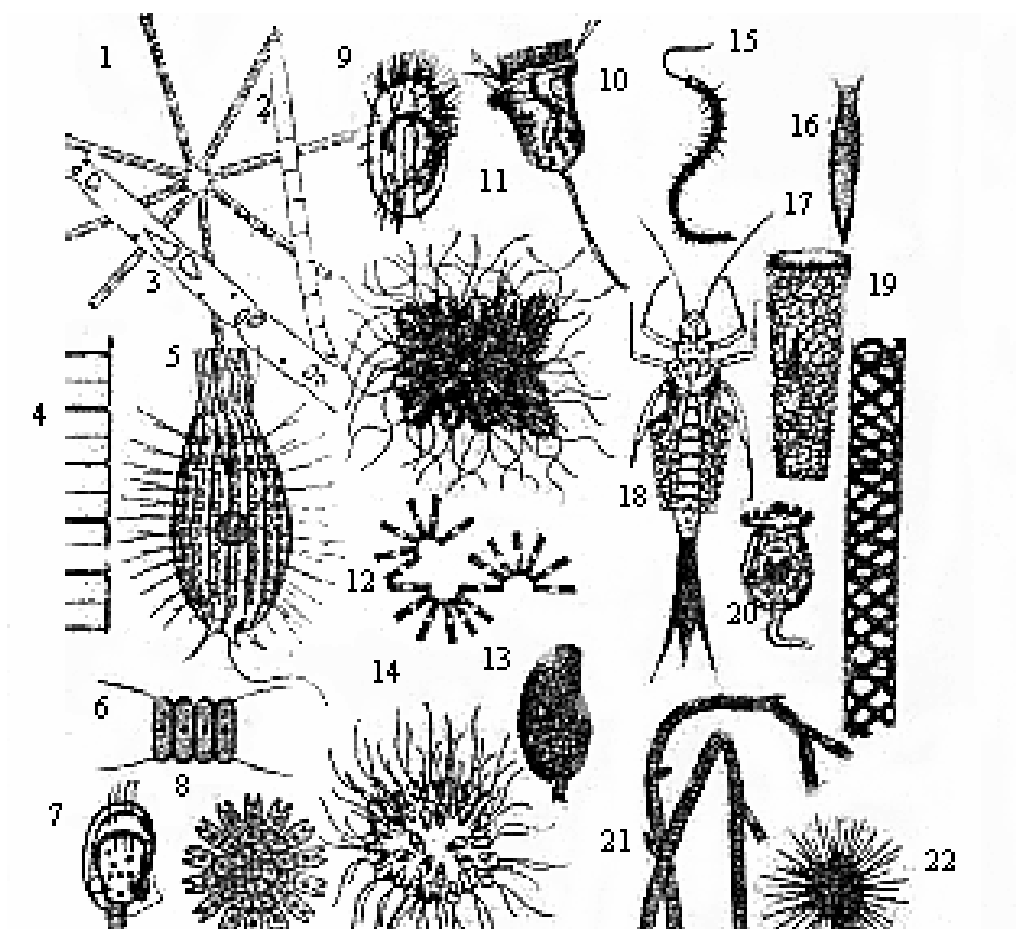


Рис.13.Організми β -мезосапробної зони

- 1** - *Asterionella formosa*; **2** - *Oscillatoria Orubescens*; **3** - *Oscillatoria Redekii*;
4 - *Melosira varians*; **5** - *Coleps hirtus*; **6** - *Scenedesmus quadricauda*;
7 - *Aspidisca lynceus*; **8** - *Pediastrum Boryanum*; **9** - *Euplotes charon*;
10 - *Vorticella campanula*; **11** - *Synura uvella*; **12** - *Tabellaria fenestrata*;
13 - *Paramaecium bursaria*; **14** - *Uroglena volvox*; **15** - *Stylaria lacustris*;
16 - *Polycelis cornuta*; **17** - *Hydropsyche lepida*; **18** - Личинка *Cloeon dipterium*;
19 - *Spirogyra crassa*; **20** - *Brachionus urceus*; **21** - *Cladophora crispata*;
22 - *Actinosphaerium Eichhorni*

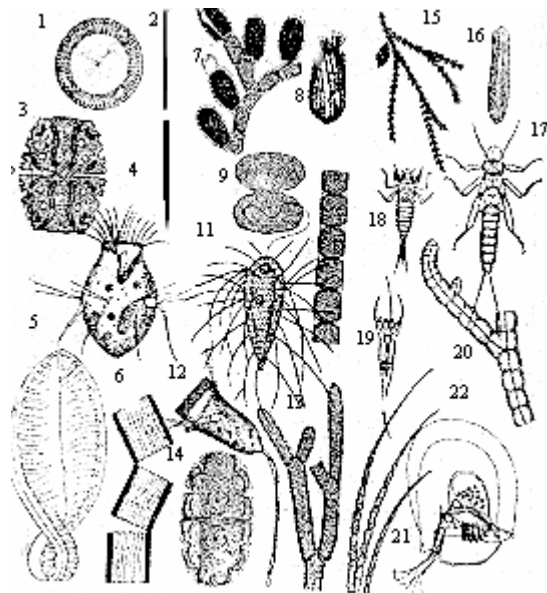


Рис.14

Організми олігосапробної зони

- 1** - *Cyclotella bodanica*; **2** - *Synedera acus var.angustissima*;
3 - *micresterias trucata*; **4** - *Halteria cirrifera*; **5** - *Surirella spiralis*;
6 - *Tabellaria flocculosa*; **7** - *Bulbochaete merabilis*; **8** - *Strombidinopsis gyrans*;
9 - *Sstaurastrum punctulatum*; **10** - *Ulothrix zonana*; **11** - *Mallomonas caudata*;
12 - *Vorticella nebulfera var.similis*; **13** - *Cladophora glomrata*;
14 - *Euastrum oblongum*; **15** - *Fontinalis antipyreyica*;
16 - *Planaria gonocephala*; **17** - Личинка *Perla bipunctata*;
18 - Личинка *Oligoneuria rhenana*; **19** - *Notholca longispina*;
20 - *B atrachspertium vagum*; **21** - *Lemanea annulata*;
22 - *Holopedium gibberum*.

Сіркобактерії є індикаторами сірки в воді, незалежно від її походження.

Робити висновок про ступінь забрудненості води можна лише по наявності ценозів, що характерні для тієї чи іншої зони сапробності, а не окремих, навіть індикаторних, організмів.

Завдання на лабораторну роботу:

Визначити ступінь сапробності водойма за зразком води.

Лабораторна робота 3. **Біологічний аналіз активного мулу та біоплівки.**

Активний мул та біоплівка являють собою сформований біоценоз. До його складу входять бактерії, найпростіші, черви та деякі членистоногі. Головна роль у переробці органічних сполук належить бактеріям. Найпростіші з'їдають бактерій та тонкодисперсну завесь, чим сприяють освітленню рідини. Інші представники біоценозу також приймають участь в освітленні рідини. Постійні спостереження за ходом біологічної очистки стічних вод показали, що склад активного мулу та біоплівки свідчить про якість роботи очисних споруд.

Розглянемо характеристику активного мулу в різних умовах.

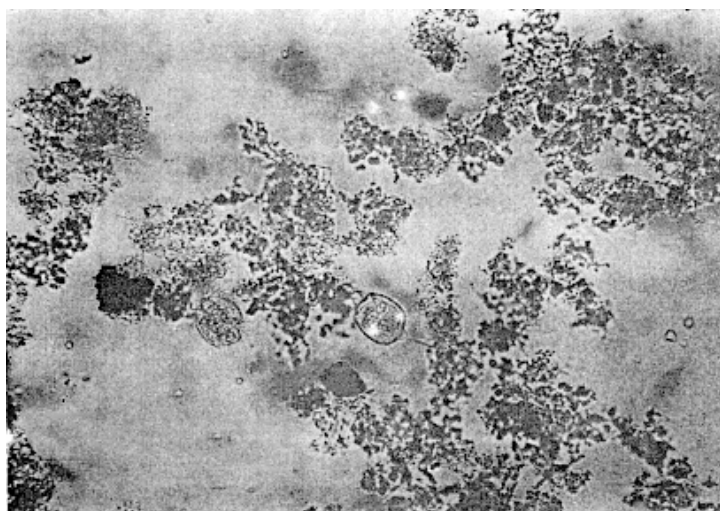


Рис.15

Задовільно працюючий активний мул. Помітні *Euplotes*

Задовільно працюючий мул (рис.15).

В задовільно працюючому мулі знаходяться різноманітні найпростіші з деякою перевагою якогось із видів. Іноді зустрічаються *Lionotus*, *Podophrya*, *Vorticella microstoma*, джгутикові та дрібні амеби. Постійно присутні черевовійчасті та круговійчасті інфузорії. Бактерії - переважно в зооглейних скупченнях. Всі організми рухливі, у жвавому стані. Хлопок мулу компактний. Мул швидко осідає. Вода над мулом прозора.

Голодуючий мул.

В разі низької концентрації органічних речовин в стічній рідині активний мул відчуває "голодування". При цьому найпростіші поступово

дрібнішають, вони стають прозорими, їх травні вакуолі зникають, інфузорії перетворюються на цисти. Коловертки утворюють цисти пізніше, ніж інфузорії. Сірка в клітинах нитчастих сіркобактерій зникає. Зооглеї та хлопки мулу стають прозорими. Вода над мулом каламутна.

Нітрифікуючий мул.

В разі нестачі органічного живлення та надлишку мінерального азоту, в рідині, яка чиститься, може утворюватись значна кількість нітритів та нітратів. При цьому в воді в помітній кількості коловертки (*Callidina*, *Rotatoria* та інші); переважають *Peritricha* (*V.convallari`a*, *Carchesium*), *Arcella*, крупні амеби, буйно розвиваються *Zoogloea ramigera*. Можлива присутність у великій кількості малощетинкових червів *Aelosoma*. Відсутні *Chilodon*, дрібні амеби, безбарвні джгутикові. Хлопок мулу пухкий, після осідання спливає.

Перевантажений мул (рис.16).

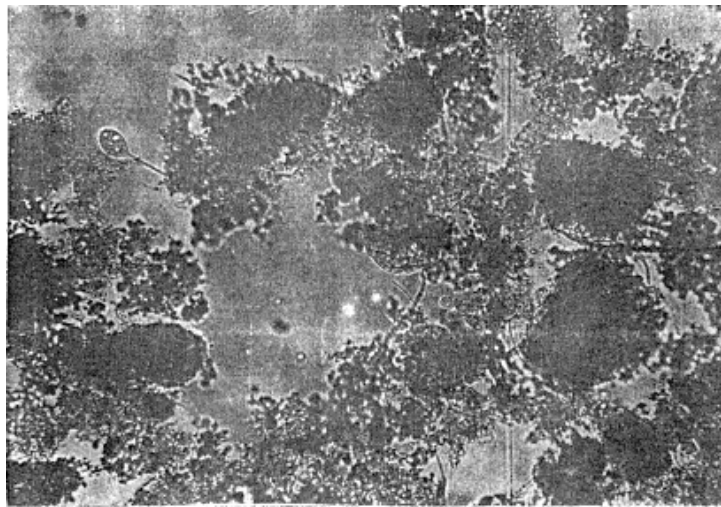


Рис.16

Активний мул при значному перевантаженні.

Хлопки мулу містять механічні включення. Коловертки зіщулились. Вортицелла має замкнений війчастий диск.

У тому випадку, коли активний мул не вправляється із забрудненням, що надходить, для біоценоза мулу характерна мала різноманітність видів при кількісній перевазі двох- трьох з них.

Звичайно спостерігається велика кількість безбарвних джгутикових, дрібних амеб, *Lionotus* або дрібних інфузорій. Іноді в помітній кількості присутні *Podophrya*, *Chilodon*, *Nematodes*, *V.microstoma*, *Opercularia* та нитчасті бактерії. Мул забруднений різноманітними вкрапленнями: органічними аморфними частинками, сміттям. Хлопки мулу темні, густі. Вода над мулом з опалесценцією.

Мул при зміні складу стічної води.

Спостерігається: збільшення кількості джгутикових; перетворення найпростіших на цисти; загибель коловерток в стисненому стані; зменшується кількість нитчастих, які у подальшому можуть знову з'являтися.

Мул неадаптований.

Зменшується число видів, мають перевагу один-два види. Гідробіонти дрібнішають, особливо *Vorticella convallaria*, *Opercularia*, *Carchesium*. Загальна кількість зростає, або значно зменшується в залежності від ступеня токсичності води. Вії інфузорій нерухомі, війчастий диск оперкулярій замкнений. Мул подрібнений, забруднений вкрапленнями промстоків, має забарвлені частки, плохо осідає. Вода над мулом каламутна.

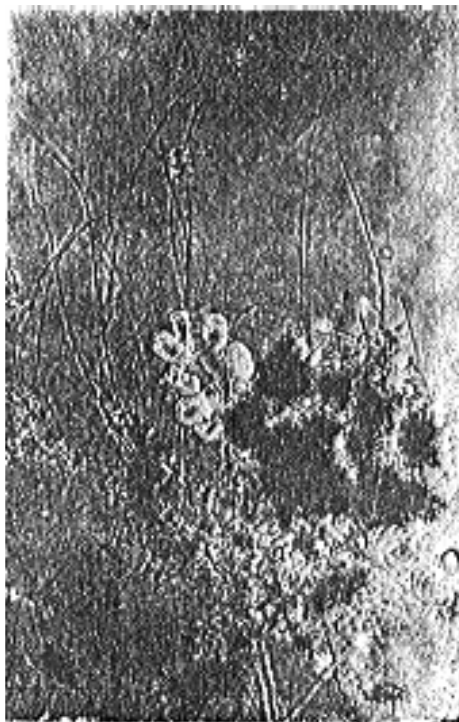


Рис.17

Спухаючий активний мул

Мул при нестачі кисню.

В разі нестачі розчиненого кисню вортицели відриваються від стебельця та утворюють особливу вільноплаваючу форму з вінцем війок на задньому кінці. При подальшому зниженні концентрації кисню з'являються особні вортицел, роздуті до кульоподібної форми, які потім лопаються. *Opercularia* з замкненим війчастим диском, дрібні, нерухомі. Коловертки - залякли у витягнутому стані або відмираючі їх особні. У великій кількості з'являються джгутикові; з інфузорій переважають *Paramecium caudatum*, бо вони більш стійкі до нестачі кисню та здатні розвиватись навіть в мулі, що гніє, його хлопки при цьому розпадаються. Вода над мулом каламутніє.

Спухаючий мул. (рис.17).

Масовий розвиток нитчастих бактерій та грибів витісняє зооглейні скупчення, що призводить до поганого осідання активного мулу та виносу його з вторинного відстойника. Очистка при цьому погіршується Незважаючи на те, що нитчасті бактерії та гриби є добрими мінералізаторами, побічні явища, викликані їх масовим розвитком, знижують ефект очистки.

Мул з регенератора.

а) При задовільній регенерації спостерігається кількісна перевага *Peritricha* (*Carchesium*, *Vorticella convallaria*, *Opercularia*) перед вільноплаваючими інфузоріями. Збільшення кількості організмів *Peritricha* та зооглей у порівнянні з мулом в аеротенку. Організми рухливі. Хлопок мулу великий, добре осідає. Вода над мулом прозора.

б) При глибокій регенерації переважають великі вільноплаваючі інфузорії. Збільшуються розміри *Vorticella* та *Opercularia*. Хлопок мулу розпадається на дрібніші хлопочки. Вода над мулом має дрібну каламуть, яка не осідає.

Біоплівка.

На відміну від активного мулу біоценоз біоплівки має значно більшу різноманітність форм гідробіонтів. При постійному очищенні води в біофільтрі змінюється біоценоз біоплівки та спостерігається зміна зон сапробності.

В верхньому горизонті біофільтра створюються умови для полісапробної або альфамезосапробної зон. В біоплівці переважають гриби, різноманітні бактерії, особливо багато нитчастих. З найпростіших мають перевагу безбарвні джгутикові (роди *Oicomonas* та *Bodo*) та вільноплаваючі інфузорії загона рівновійчастих, особливо *Paramecium*, з круговійчастих інфузорій тільки *Opercularia*. В біофільтрі іноді спостерігаються представники зелених водоростей та джгутикових: *Selensastrum* та *Peranema*. З червів в незначній кількості зустрічаються коловертки та круглі черви.

При проходженні рідини через біофільтр в біоплівці зменшується кількість бактерій, грибів та безбарвних джгутикових.

Збільшується кількість вільноплаваючих крупних черевовійчастих інфузорій, з'являються різноманітні прикріплені інфузорії, збільшується кількість коловерток та круглих червів. В біоплівці переважають форми, притаманні мезосапробній зоні.

Відбирання проб для мікроскопування:

а) активний мул.

З аеротенка відбирається мулова рідина в пробірку в кількості 7-10 мл. Мул відстоюванням відділяється від рідини (2-3 хвилини) і потім піпеткою з широким отвором відбирається для мікроскопування;

б) біоплівка.

З різних горизонтів біофільтра відбирається засипний матеріал (шлак, щебінь, керамзит, т.ін.), вміщується в фарфорову чашку і заливається невеликою кількістю дистильованої води. Із засипного матеріалу плівку необхідно зчищати препарувальними голками. Для мікроскопування біоплівка відбирається піпеткою з широким отвором.

Послідовність опису активного мулу і біоплівки.

1. Швидкість осідання мулу (швидко, повільно).
2. Колір мулу (бурий, чорний, білуватий т.ін.).
3. Вода над мулом (прозора, каламутна, забарвлена).

Подальший опис ведуть при мікроскопуванні. Необхідно продивитись не менш за 10 полів зору.

4. Щільність та розмір хлопка (щільний, роздріблений, крупний, дрібний).
5. Присутність сторонніх вкраплень.
6. Склад гідробіонтів.
7. Кількість гідробіонтів за п'ятибальною системою (див. нижче).
8. Наявність грибів та нитчастих бактерій.
9. Наявність вільноплаваючих бактерій (багато, мало).

Форми бактерій, які переважають (дрібні палички, крупні палички, спірили і т.ін.).

Пункти 4-7 описуються при малому збільшенні (об'єktiv 8-10), а 8 та 9 - при великому збільшенні (об'єktiv 40).

Кількість організмів оцінюється за п'ятибальною системою хрестиками. Один - поодинокі, два - мало, три - чимало, чотири - багато, п'ять - масовий розвиток. Відмічається також стан організмів, їх рухливість, робота війчастого апарату.

Завдання:

1. Промікроскопувати та дати опис зразків активного мулу та біоплівки (по схемі).
2. Назвати переважаючі форми гідробіонтів. Дати кількісну оцінку розвитку гідробіонтів за п'ятибальною системою.
3. Зробити висновок про стан активного мулу і біоплівки

Навчальне видання

Методичні вказівки до лабораторних робіт з курсу «Мікробіологія»
(для студентів 4, 5 курсів заочної форми навчання напряму 6.060103 «Гідро-
техніка (Водні ресурси)», 0926 «Водні ресурси»).

Упорядник: Дегтерева Людмила Іванівна

Редактор *М. З. Аляб'єв*

Комп'ютерне верстання *Ю. П. Степась*

План 2009, поз. 143 М

Підп. до друку 15.10.09

Формат 60x84 1/16

Друк на ризографі.

Ум. друк. арк. 1,2

Тираж 50 пр.

Зам. №

Видавець і виготовлювач:
Харківська національна академія міського господарства
вул. Революції, 12, Харків, 61002
Електронна адреса: rectorat@ksame.kharkov.ua
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи:
ДК № 731 від 19.12.2001