

MONITORIZAREA UNOR PARAMETRI MICROBIOLOGICI ȘI A COMPOZIȚIEI ALGALE ÎN APELE DE SUPRAFAȚĂ ALE UNOR EMISARI DIN BAZINUL DORNELOR

Ionela VOLOȘENIUC¹ Liviu MIRON¹

ionela.voloseniuc@valvis-holding.com

Abstract

The objective of this study was to establish the microbiological and algal load of surface waters from the streams that cross the Dorna's Basin. In order to carry out this study, 10 sampling stations were established over four streams, the study taking place during the period of two years, 2017 and 2018, between May and October. The samples were analyzed in the laboratory using specific methods for each monitored indicator, observing the fluctuations which are determined by the sampling location, weather phenomena, and the influence of anthropogenic factors that are relevant for the streams that were studied. Therefore, microbiological parameters are strongly influenced by contamination with faeces from both animals (wild and domestic), as well as from households, that are not connected to a centralized sewer system, especially the ones which use septic tanks that are, in many cases, inappropriately built. All microbiological indicators showed significant variations between sampling stations along the same stream, upstream the values recorded being much lower than downstream. The samples that presented the lowest values, for all the evaluated parameters, were those collected upstream of the Călimănel brook. The absence of the *Pseudomonas aeruginosa* indicator from all samples taken during the study was recorded at two of the stations, Călimănel-sus (stream) and Secu-sus and the spores of sulfite-reducing anaerobic bacteria (*Clostridium*) were not identified in the samples collected from Călimănel-sus station (stream). The samples with the highest degree of contamination were those taken from Arinu-jos station and those from Călimănel-jos, the anthropic influence being evident through the economic activities that were carried out. Similar values were obtained following the analyzes performed for each type of algae, recording higher levels of parameters in the case of samples taken from the Arini-jos station. The maximum values were recorded from the samples taken from the stations on the Arinu rivulet in August 2018, after a torrential rain, when large quantities of organic substances were entrained. The main conclusion obtained from the interpretation of the results is that the surface waters have a significant microbial load and that it multiplies exponentially from the source to the collector.

Key words: parametri microbiologici, alge, contaminare

Microbiologia apelor de suprafață se caracterizează printr-o încărcătură importantă de specii și genuri, fiind cunoscut faptul că apa este un mediu propice dezvoltării multor microorganisme. Studiul de față își propune evaluarea calitativă și cantitativă a unor indicatori microbiologici definitorii în evaluarea calității apei. Având în vedere faptul că nu există normative microbiologice pentru apele de suprafață, au fost urmăriți parametrii definiți în legislația privind apele minerale naturale. Obiectivul principal îl constituie evaluarea poluării antropice cu specii potențial patogene pentru sănătatea umană și animală. Probele au fost prelevate din aceleași stații, din amonte și aval comunităților umane. Parametrii urmăriți au fost: număr total de germeni la 22°C și 37°C, enterococi intestinali, bacterii coliforme și *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, precum și spori ai unor bacterii anaerobe sulfito-reducătoare (*Clostridium* sp.). Metodele de analiză utilizate au fost cele indicate de legislație, folosind medii de cultură specifice fiecărui tip de microorganism.

De asemenea, studiul a urmărit și încărcătura algală a surselor de apă studiate. Acest parametru nu este definit în legislația apelor curgătoare sau a

apelor minerale naturale, rezultatele obținute au fiind astfel comparate între ele, în lipsa unui reper. Cercetările au urmărit evidențierea creșterii masei algale de la izvor la vărsare, precum și între surse. Metoda utilizată a fost cea spectrometrică. Monitorizarea acestor parametri are o importanță deosebită pentru biosecuritatea surselor de apă, cunoscut fiind faptul că apa reprezintă un vector important pentru microorganismele patogene, la om și animale.

MATERIAL ȘI METODĂ

În intervalul mai - octombrie a fiecărui an de studiu, 2017 și 2018, s-au prelevat 120 de probe de apă de suprafață din patru emisari care străbat Bazinul Dornelor, cu stații de prelevare în amonte și aval comunităților umane, urmărindu-se o serie de indicatori semnificativi pentru aprecierea calității apelor de suprafață. Probele s-au recoltat în recipiente sterile de 500 ml și au fost transportate în genți frigorifice la laborator, unde analizele s-au efectuat în maxim o oră de la prelevare. Indicatorii urmăriți au fost: 1. Numărul total de germeni (NTG) prin metoda numărării coloniilor prin însămânțare

în mediu de cultură agar. 2. Bacterii coliforme și *Escherichia coli* prin metoda filtrării prin membrană; 3. Enterococi intestinali, prin metoda filtrării prin membrană. 4. *Pseudomonas aeruginosa* prin metoda filtrării prin membrană. 5. Spori de bacterii anaerobe sulfito-reducătoare (*Clostridium*), prin metoda filtrării prin membrană; 6. Biomasă algală și substanță galbenă prin determinarea spectrometrică a conținutului de clorofilă a.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Pentru **numărul total de germeni la 22°C**, valorile citite s-au încadrat între 240 UFC/ml și 82.000 UFC/ml, lucrându-se cu diluții de până la 10^{-3} , pentru o mai bună acuratețe a rezultatelor. Analizând toate rezultatele pentru acest parametru, se observă că cele mai mici valori au fost obținute la probele prelevate din stațiile din amonte ale pârâului Călimănel, unde, constant, rezultatele au fost mult mai mici comparativ cu celelalte probe. Valorile cele mai ridicate au fost obținute pentru probele prelevate de la stațiile de pe Secu și Arinu.

Pentru **numărul total de germeni la 37°C**, valorile citite s-au încadrat între <100 UFC/ml și 4.300 UFC/ml, lucrându-se cu diluții de până la 10^{-3} , tot pentru o mai bună acuratețe a rezultatelor. În urma analizei rezultatelor obținute pentru acest parametru, s-a observat că cele mai mici valori au fost obținute tot pentru probele prelevate din stațiile din amonte ale pârâului Călimănel. Rezultatele obținute la examinarea probelor recoltate din celelalte stații au prezentat fluctuații de la o lună la alta, înregistrându-se valori mai mici la stațiile din amonte față de cele din aval.

Pentru parametrul **bacterii coliforme**, valorile citite s-au încadrat între <1 UFC/ 50 ml și 1.650 UFC /50 ml. Astfel, cele mai mici valori au fost obținute pentru probele prelevate din stațiile din amonte ale pârâului Călimănel, pentru care, constant, s-au obținut rezultatele foarte mici comparativ cu toate celelalte probe. Pentru probele prelevate din celelalte puncte de recoltare, rezultatele au variat lunar, valori mai reduse fiind observate în cazul stațiilor din amonte față de cele din aval.

Pentru ***Escherichia coli***, valorile citite s-au încadrat între <1 UFC/ 50 ml și 1.000 UFC /50 ml. Ca și în cazul parametrilor anterior prezentați, valorile cele mai reduse au fost obținute la probele prelevate din stațiile din amonte ale pârâului Călimănel. Variații de la o lună la alta și valori mai mici pentru probele recoltate din stațiile din amonte față de cele din aval au fost observate și pentru acest indicator.

Suplimentar s-au realizat și teste de identificare a speciilor folosind KIT - uri Biomerieux, denumite comercial *API E* pentru grupa coliformilor, care au ca principiu de determinare un complex de teste biochimice. Aceste teste au confirmat rezultatele obținute prin tehnici microbiologice, privind prezența bacteriei *Escherichia coli* în mai multe probe. Prin aceleași teste au fost identificate mai multe specii din familia coliformilor, precum *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter amnigenus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia vulgaris*.

Pentru **enterococii intestinali**, valorile citite s-au încadrat între <1 UFC/ 50 ml și 650 UFC /50 ml. Și pentru acest parametru se mențin observațiile privind valorile reduse obținute în cazul probelor prelevate din stațiile din amonte ale pârâului Călimănel, cât și constanța fluctuațiilor lunare și a valorilor mai reduse observate pentru probele prelevate din stațiile din amonte, față de cele din aval.

Pentru ***Pseudomonas aeruginosa***, valorile citite s-au încadrat între <1 UFC/ 50 ml și 48 UFC /50 ml. Analizând toate rezultatele pentru acest parametru, se observă absența acestei bacterii din toate probele prelevate de la stațiile Călimănel-sus (pârâu) și Secu-sus, în cei doi ani evaluați. Pentru restul stațiilor din amonte, au fost obținute valori reduse pentru un număr mic de probe. La probele prelevate de la stațiile din aval, rezultatele au fluctuat de la o lună la alta. Suplimentar s-au realizat și teste de identificare a speciilor folosind KIT - uri Biomerieux, denumite comercial *API NE*, care utilizează, pentru determinare, un complex de teste biochimice. Prin aceste teste s-au identificat mai multe specii ale genului *Pseudomonas*: *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. luteola*, *P. stutzeri*.

Pentru **sporii de bacterii anaerobe sulfito-reducătoare (*Clostridium*)**, valorile citite s-au încadrat între <1 UFC/ 50 ml și 25 UFC /50 ml. În urma analizei globale a rezultatelor pentru acest parametru, s-a observat absența acestor bacterii din majoritatea probelor prelevate de la stațiile din amonte ale pârâului Călimănel, o sigura probă fiind pozitivă (iulie 2018). La probele prelevate de la restul stațiilor, rezultatele au prezentat fluctuații lunare și valori mai mici la stațiile din amonte față de cele din aval.

Pentru **alegele verzi**, citite de LED - urile cu 470 nm lungime de undă, rezultatele obținute se încadrează între 0 și 2,35 $\mu\text{g/l}$, cu o medie 0,23 $\mu\text{g/l}$. Valorile maxime au fost înregistrate la probele prelevate pe 17 iulie 2018, de la stațiile de pe pârâul Arinu, după o ploaie abundentă, valori coroborate cu creșteri exagerate ale substanțelor organice, valori ridicate ale încărcăturii microbiene, dar și cu valori crescute ale algelor albastre-vezi și diatomee.

Pentru **algele diatomee**, citite de LED - urile cu 525 nm lungime de undă, rezultatele obținute se încadrează între 0 și 2,71 $\mu\text{g/l}$, cu o medie de 0,72 $\mu\text{g/l}$.

Pentru **algele criptofite**, citite de LED - urile cu 570 nm lungime de undă rezultatele obținute se încadrează între 0 și 0,58 $\mu\text{g/l}$, cu o medie 0,24 $\mu\text{g/l}$. Valorile maxime au fost înregistrate în probele prelevate de la stațiile de pe pâraiele Secu sus și Arinu sus.

Pentru **algele albastre - verzi**, citite de LED - urile cu 610 nm lungime de undă, rezultatele obținute se încadrează între 0 și 2,49 $\mu\text{g/l}$, cu o medie de 0,14 $\mu\text{g/l}$. Valorile maxime au fost înregistrate la probele prelevate de la stațiile Arinu iar la probele prelevate de la stațiile din amonte ale pâraului, rezultatele au fost negative, exceptând luna octombrie 2017.

CONCLUZII

Concluzia principală obținută din interpretarea rezultatelor este aceea că apele de suprafață au o încărcătură microbiană semnificativă și că aceasta se multiplică exponențial de la izvor spre colector. Parametrii microbiologici sunt influențați puternic de prezența materiilor fecale provenite atât de la animale (sălbatiche și domestice), precum și de la gospodăriile populației, neracordate la un sistem centralizat de canalizare, folosindu-se de fose septice, în multe cazuri improprii. Încărcătura microbiană mare se datorează și sistemului extensiv (ecologic) de creștere a animalelor, care au acces liber la pâraie și izvoare. La cele deja menționate se mai adaugă și exploatarea forestieră care, în majoritatea cazurilor afectează cursul apelor prin trecere cu utilaje grele și material lemnos prin cursurile de apă.

MULȚUMIRI

Realizarea studiului a fost susținută de colegii din cadrul laboratorului de microbiologie al societății Carpathian Springs, în cadrul căreia s-au realizat toate analizele.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

Antonescu C.S., *Biologia apelor*, 1963, 18-26, 232-277
Ardeleanu I, *Microbiologie generala, vol. I* 2013, 13
Ardeleanu I, *Microbiologie generala, vol. II* 2013, 246
Bărzoi D., **Apostu S.**, *Microbiologia produselor alimentare*, 2002, 547 **Carte tehnică** aparat AlgaeLabAnalyser BBE Moldaenke
Ionescu Al., *Lumea algelor*, 1972, 9, 27
Dinache Gh. Radu V., **Panaitescu D.**, **Brezeanu Al.**, *Microbiologie și parazitologie*, 1978, 42

Pentru **concentrația algală totală** (reprezentată de suma valorilor de la algele verzi, diatomee, criptofite și alge albastre - verzi) rezultatele se încadrează între 0,03 $\mu\text{g/l}$ și 7,57 $\mu\text{g/l}$, iar media este de 1,35 $\mu\text{g/l}$.

Pentru **substanța galbenă** (reprezintă substanțe organice din apă, de altă proveniență decât din alge, fiind un indicator al încărcături organice din apă), citită de LED - urile cu 370 nm lungime de undă, valorile maxime înregistrate sunt coroborate cu valorile foarte ridicate de la substanțele organice din probele prelevate pe 17 iulie 2018, de la stațiile de pe pâraul Arinu, după o ploaie abundentă. Restul valorilor prezintă omogenitate fiind identificate fluctuații mici între luni și stații de prelevare.

REFERENCES

Duca Eugenia, Duca M., Furtunescu G., *Microbiologie medicală*, 1979, 460, 485
Dunca Simona, Nimițan Erica, Ailiesei Octăvița, Ștefan M., *Microbiologie aplicată*, 2004, 223
I.N.C.D.D.D. Tulcea - revista *Probleme de Ecologie Teoretică și Aplicată în România - Direcții Actuale*, nr. 13 - *Tehnici de monitoring și evaluare a înfloririlor algale*, 3-4
Ivanov A., Ciupe M., Sașcă C., Vancea Doina, *Microbiologie*, 1982, 169, 191,
Mănescu S., *Microbiologie sanitară*, 1989, 153 - 136
Mohan Gh., Ardelean A., *Ecologia și protecția mediului*, 1993, 93 - 95
Peterfi St., Ionescu Al., *Tratat de algologie*, volumul 1, 1976, 375 - 376
Peterfi St., Ionescu, Al., *Tratat de algologie*, volumul 2, 1979, 254 - 260
Peterfi St., Ionescu, Al., *Tratat de algologie*, volumul 3, 1979, 152 - 153
Peterfi St., Ionescu Al., *Tratat de algologie*, volumul 4, 1981, 13 - 47, 239 - 246, 261 - 279, 357 - 359
Popa M.I., *Microbiologie generală și microbiologie specială*, note de curs, 1999, 155, 179,
Șchiopu E. B., *Algologie*, 2008, 7- 8
Topală N.D., *Microbiologie generală*, vol. I și II, 1978, 276, 341
Zarma M., *Microbiologie generală*, 1964, 123
Zarnea G., Popescu O.V., *Dicționar de microbiologie generală și biologie moleculară*, 2011, 296 - 297, 306 - 307, 424 - 425, 438 - 439, 959
Zarnea G., *Microbiologie generală*, 1970, 241, 435
Zarnea G., *Microbiologie*, 1963, 15, 33
Zarnea G., *Tratat de microbiologie generală, vol II*, 1984, 325
Zarnea G., *Tratat de microbiologie generală, vol IV*, 1994, 681