

ГИДРОХИМИЯ, ГИДРОБИОЛОГИЯ,
ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

УДК 574.52.044

ЭКОЛОГО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
ОЗЕРА БЕЛОГО С ПРИМЕНЕНИЕМ ИННОВАЦИОННЫХ ТЕСТ-
СИСТЕМ В ЗИМНЕ-ВЕСЕННИЙ ПЕРИОД 2015–2016 гг.¹

© 2019 г. И. В. Мошарова^{1,2,*}, В. В. Ильинский¹, С. А. Мошаров², А. Ю. Акулова¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Москва, 119991 Россия

²Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН

Москва, 117997 Россия

*e-mail: ivmpost@mail.ru

Поступила в редакцию 04.02.2018 г.

После доработки 28.03.2018 г.

Принята к публикации 26.04.2018 г.

В зимне-весенний период 2015–2016 гг. в поверхностном и придонном слоях воды оз. Белого были изучены содержание хлорофилла *a*, общая численность бактерий, численность бактериальных клеток с активным метаболизмом, численность сапротрофных бактерий. Численность санитарно-показательных микроорганизмов определена впервые с применением тест-систем Петрифилмы (3М™ Petrifilm™). Установлено, что в зимне-весенний период в большинстве случаев воды оз. Белого соответствуют эвтрофному уровню (по содержанию хлорофилла *a* в воде) и полисапротрофному статусу (по микробиологическим показателям). По санитарно-микробиологическим показателям озеро относится к чистым — значения общего микробного числа, определенные с помощью тест-систем 3М™ Petrifilm™ Aqua (AQHC), составляли < 1000 КОЕ/мл, а численность бактерий группы кишечной палочки, определенная с помощью тест-систем 3М™ Petrifilm™ Aqua (AQCC), варьировала от 20 до 135 КОЕ/100 мл. Бактерии группы кишечной палочки встречались в основном лишь в придонном слое водной толщи озера. Показано, что при организации эколого-микробиологических исследований особое внимание необходимо уделять придонным горизонтам водоемов.

Ключевые слова: бактериопланктон, активно функционирующие бактерии, хлорофилл *a*, озера умеренных широт, Петрифилмы (3М™ Petrifilm™), санитарно-показательные микроорганизмы.

DOI: 10.31857/S0321-0596466621-628

ВВЕДЕНИЕ

Озеро Белое входит в состав Косинского лимнологического комплекса и расположено в черте г. Москвы. Сравнительная близость озера к районам массовой жилой застройки и связанная с этим значительная рекреационная нагрузка на его прибрежную зону позволяют в полной мере изучать последствия антропогенного воздействия на состояние всех звеньев водных экосистем, в том числе бактерио- и фитопланктона.

Бактериопланктон первым из всех групп гидробионтов реагирует на изменения состояния окружающей среды. Связанные с ним микробиологические параметры, такие как общая

численность микроорганизмов, численность сапротрофных бактерий, а также численность бактериальных клеток с активным метаболизмом, отражают процессы деструкции органического вещества, происходящие в экосистеме, и широко применяются в биологическом мониторинге [11, 14, 22]. Используется также относительный микробиологический показатель — индекс чистоты воды по С.И. Кузнецову [9, 14] — отношение общей численности бактерий к численности сапротрофных микроорганизмов.

Содержание в воде хлорофилла (Хл) *a* — основного фотосинтетического пигмента — характеризует особенности развития и пространственного распределения фитопланктона и поэтому включено в перечень основных параметров в системе биологического мониторинга. Изучение сбалансированности функционирования важ-

¹ Работа выполнена в рамках темы НИР “Физиологическая экология микроорганизмов водных экосистем” (проект АААА-А16-116021660041-4).

ных компонентов водных биоценозов — бактерио- и фитопланктона — важное направление фундаментальных и прикладных экологических исследований.

Известно, что антропогенное воздействие способно вызывать не только нарушения сбалансированности продукционных и деструкционных процессов в водоеме, но также и изменение его санитарного статуса [8]. Для оценки степени этого воздействия используются различные санитарно-микробиологические параметры, в том числе общее микробное число (ОМЧ) — показатель, отражающий общее содержание мезофильных, аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов; численность бактерий группы кишечной палочки (БГКП), который косвенно характеризует уровень фекального загрязнения водоема [8, 15].

Для быстрой количественной оценки обилия санитарно-показательных микроорганизмов в воде разработаны тест-системы Петрифилмы (3М™ Petrifilm™), которые применяются в настоящее время для анализа питьевой бутилированной воды [12, 15]. Однако до сих пор практически ничего не известно о возможности применения этих тест-систем для учета санитарно-показательных микроорганизмов в природных водоемах, в том числе — испытывающих значительную рекреационную нагрузку.

Цель настоящей работы — эколого-микробиологическое исследование вод оз. Белого в зимне-весенний период 2015–2016 гг., а также оценка возможности использования тест-систем 3М™ Petrifilm™ для учета групп для определения санитарно-микробиологических параметров — общего микробного числа и численности бактерий группы кишечной палочки в водной толще открытых пресноводных водоемов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Озеро Белое имеет площадь 0.2 км², это самое глубокое (13.5 м) озеро в Косинском лимнологическом комплексе, эвтрофное, содержащее значительное количество растворенного и взвешенного органического вещества. На дне озера имеются отложения сапропеля толщиной до 10 м, а в придонных слоях воды присутствует сероводород [3].

Исследования проводили на станциях с глубинами от 5 до 13 м, расположенных на различном расстоянии от берегов озера. Пробы отбирали из двух горизонтов водной толщи: по-

верхностного (глубина 0.5–1 м) и придонного (50 см от поверхности дна) в период с декабря 2015 по май 2016 г. ежемесячно, за исключением апреля 2016 г., когда из-за массового таяния льда на озере отбор проб провести не удалось.

В период ледостава пробы воды отбирали из лунки, сделанной во льду с помощью пешни или бура диаметром 20 см. Для отбора проб воды из поверхностного горизонта использовали батометр-бутылку, оснащенную стерильной склянкой объемом 250 мл; из придонного слоя воды пробы отбирали батометром Рутнера. Пробы воды для определения концентраций Хл *a* помещали в нестерильные непрозрачные пластиковые бутылки объемом 1 л и доставляли в лабораторию в переносной сумке-холодильнике не позднее чем через час после их отбора.

Для определения общей численности (ОЧБ) и морфологического состава бактериопланктона использовали метод эпифлуоресцентной микроскопии с окраской клеток водным раствором флуорохрома акридинового оранжевого [14, 22]. Просчитывали ≥20 полей зрения на каждом фильтре, при этом суммарная численность просчитанных клеток составляла ≥400.

Для учета численности бактерий с активной электронно-транспортной цепью, т.е. активно функционирующих (АФБ), применяли соль тетразолия — 5-циано 2,3-дитолил тетразолиум хлорид (ЦТХ). Рабочий раствор ЦТХ готовили согласно [22]. Пробы воды инкубировали с ЦТХ в течение 4 ч при температуре, близкой к *in situ*. Долю АФБ в составе гетеротрофного бактериоценоза рассчитывали в процентах от ОЧБ.

Численность сапротрофных бактерий (СБ) определяли с помощью метода предельных разведений с использованием жидкой модифицированной среды Зобелла 2216Е [14] без NaCl, посева инкубировали в течение недели при комнатной температуре (20°C). Для расчета наиболее вероятного количества микробных клеток в 1 мл воды использовали таблицы Мак-Креди.

Для определения ОМЧ и численности БГКП применяли тест-системы 3М™ Petrifilm™ Aqua [12, 17]. Петрифилмы содержат специальные индикаторы и элективные субстраты, облегчающие учет выросших колоний микроорганизмов. Для определения ОМЧ на подложку 3М™ Petrifilm™ Aqua (AQHC), предназначенную для подсчета гетеротрофных микроорганизмов, в стерильных условиях методом прямого посева наносили по каплям 1 мл исследуемой пробы воды. Посевы инкубировали в течение 48 ч при

температуре 37°C, после чего учитывали количество образовавшихся колоний. Для учета численности БГКП применяли Петрифилмы 3М™ Petrifilm™ Aqua (AQCC). Пробу воды в объеме 20 мл фильтровали через стерильный мембранный фильтр с размером пор 0.2 мкм, затем фильтр накладывали на подложку Петрифилма, предварительно активированную стерильной водой. Инкубацию посевов проводили при температуре 37°C в течение 48 ч, затем учитывали количество образовавшихся колоний.

Определение концентрации Хл *a* в воде проводили флуориметрическим методом [20] с помощью сертифицированного флуориметра “МЕГА-25”, созданного на кафедре биофизики биологического факультета МГУ [10]. Пробы воды (300 мл) в течение 1–2 ч после их отбора фильтровали через стекловолокнистые фильтры GF/F (Whatman). Фильтры помещали в 90%-й ацетон, Хл *a* экстрагировали при температуре +4°C в темноте в течение 18–24 ч с последующей флуориметрией экстракта.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С конца декабря 2015 г. по первую декаду апреля 2016 г. оз. Белое было покрыто льдом. В течение этого периода толщина льда менялась от 20 см в конце декабря 2015 г. до 45 см в конце марта 2016 г. Температура в поверхностном слое воды в озере варьировала от +1°C в подледный период до +14°C в начале мая. Температура воды в придонном слое менялась от +2°C в подледный период до +4°C в начале мая. В подледный период практически во всех пробах воды присутствовал запах сероводорода.

Содержание Хл *a* в поверхностном слое воды озера в период исследований варьировало от 24.40 мкг/л в мае до 68.38 мкг/л в декабре (табл. 1), составив в среднем 35.02 мкг/л. Наиболее низкие значения содержания Хл *a* в поверхностном слое озера отмечались в весенний период (в марте и в мае). Содержание Хл *a* в придонном слое было лишь немного ниже, чем в поверхностных водах, оно варьировало от 18.8 мкг/л в марте до 60.8 мкг/л в мае, составив в среднем 31.03 мкг/л. Поверхностные и придонные воды оз. Белого по содержанию Хл *a* в исследуемый период, согласно классификации [6], характеризуются как эвтрофные (табл. 2).

ОЧБ в поверхностном слое воды оз. Белого варьировала от 5.72 млн кл/мл в декабре до 8.03 млн кл/мл в марте при среднем за период исследований значении 6.76 млн кл/мл. В при-

донном слое озера этот параметр варьировал от 3.32 млн кл/мл в мае до 10.59 млн кл/мл в марте при среднем значении 6.57 млн кл/мл (табл. 1). По морфологическим признакам в составе бактериопланктона водной толщи оз. Белого в течение всего периода наблюдений преобладали по численности мелкие кокки с диаметром клеток ~0.3 мкм.

Согласно ГОСТ [5], поверхностные воды оз. Белого в период исследований характеризуются как полисапробные (грязные). Загрязненность придонных вод озера по значениям ОЧБ значительно варьировала по этому параметру от α -мезосапробных в январе и мае до гиперсапробных в марте (табл. 2).

Численность СБ в поверхностном слое водоема варьировала от 4500 кл/мл в январе и феврале до 45 000 кл/мл в марте и мае. Средняя численность СБ за период исследований в поверхностном слое воды составила 21 700 кл/мл. Значения этого параметра в придонном слое воды были выше и варьировали в меньшей степени, чем в поверхностном, — от 45 000 кл/мл в январе и феврале до 95 000 кл/мл в марте и мае при средней численности СБ 75 000 кл/мл. Воды поверхностного слоя оз. Белого по количеству СБ, согласно ГОСТ [5], в декабре 2015 г. относились к β -мезосапробным, в январе и феврале 2016 г. — к олигосапробным, а в марте и мае 2016 г. — к α -мезосапробным. Воды придонного слоя в декабре 2015 г. относились к полисапробным, в январе и феврале — к α -мезосапробным, в марте и мае 2016 г. — снова к полисапробным (табл. 2). Таким образом, исходя из значений этого показателя, более загрязненными оказались воды придонного слоя оз. Белого.

Обнаружена положительная корреляционная связь между значениями ОЧБ и численностью СБ: $r = 0.47$ ($p < 0.05$) в поверхностном и придонном слоях водной толщи.

Значения индекса чистоты воды (ОЧБ/СБ) для поверхностного слоя воды варьировали от 45 в мае до 1637 в феврале, по этому параметру поверхностные воды оз. Белого в декабре 2015 г. и в марте 2016 г. классифицировались как β -мезосапробные. В мае 2016 г. воды поверхностного слоя по величине ОЧБ/СБ были оценены как α -мезосапробные, а в январе и феврале — как олигосапробные. Индекс чистоты воды для придонного слоя водной толщи варьировал от 23 в мае до 195 в феврале; соответственно, воды придонного слоя были классифицированы по этому показателю в декабре 2015 г. и в январе

Таблица 1. Микробиологические показатели и содержание Хл а в поверхностном и придонном слоях воды оз. Белого в период с декабря 2015 по май 2016 г.

Дата	ОЧБ, млн кл./мл	Численность СБ, кл./мл	ОЧБ/СБ	Численность АФБ, млн кл./мл	Доля АФБ от ОЧБ, %	ОМЧ, КОЕ/мл	БГКП, КОЕ/мл	Хл а, мкг/л
Слой воды 0.5–1.0 м								
08.12.2015	5.72±0.001	9500	602	0.13±0.0001	2.21	79±0.3	0	68.38±0.6
29.01.2016	5.84±0.001	4500	1297	0.10±0.0001	1.63	18±0.1	0	28.63±0.3
24.02.2016	7.37±0.002	4500	1637	0.11±0.0001	1.48	74±0.3	0	29.04±0.2
22.03.2016	8.03±0.002	45000	178	0.19±0.0001	2.35	17±0.1	0	24.63±0.2
04.05.2016	6.87±0.001	45000	45	0.35±0.0002	17.42	127±0.3	2	24.36±0.2
50-сантиметровый слой воды над поверхностью дна								
08.12.2015	6.31±0.001	95000	66	0.13±0.0001	2.11	145±0.3	11±0.1	60.79±0.5
29.01.2016	3.84±0.001	45000	85	0.07±0.0001	1.72	37±0.1	9±0.01	24.77±0.2
24.02.2016	8.80±0.002	45000	195	0.23±0.0001	2.58	100±0.3	22±0.1	29.45±0.3
22.03.2016	10.59±0.002	95000	112	0.36±0.0002	3.44	23±0.1	8±0.01	21.35±0.2
04.05.2016	3.32±0.001	95000	23	0.32±0.0002	14.56	225±0.3	27±0.1	18.85±0.1

Таблица 2. Оценка трофности и сапробности вод оз. Белого по эколого-микробиологическим и санитарным показателям в зимне-весенний период 2015–2016 гг. (оценка трофности вод дана согласно классификации [7], оценка сапробности (загрязненности) вод — по ГОСТ 17.1.2.04-77)

Хл а	08.12.2015				29.01.2016				24.02.2016				22.03.2016				04.05.2016			
	Слой воды от поверхности до глубины 1 м																			
Общая численность бактерий	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные		
Численность сапротрофных бактерий	Полисапробные (грязные)	Полисапробные (грязные)	Полисапробные (грязные)	Полисапробные (грязные)	Олигосапробные (грязные)	Олигосапробные (грязные)	Олигосапробные (грязные)	Олигосапробные (грязные)	Олигосапробные (грязные)	Олигосапробные (грязные)	Олигосапробные (грязные)	Олигосапробные (грязные)	Олигосапробные (грязные)	Олигосапробные (грязные)	Олигосапробные (грязные)	Олигосапробные (грязные)	Олигосапробные (грязные)	Олигосапробные (грязные)		
Индекс чистоты воды ОЧБ/СБ	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)		
Численность активно функционирующих бактерий	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые		
Общее микробное число	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые		
Бактерии группы кишечной палочки	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые		
50-сантиметровый слой воды над поверхностью дна																				
Содержание Хл а	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные	Эвтрофные		
Общая численность бактерий	Полисапробные (грязные)	Полисапробные (грязные)	Полисапробные (грязные)	Полисапробные (грязные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)		
Численность сапротрофных бактерий	Полисапробные (грязные)	Полисапробные (грязные)	Полисапробные (грязные)	Полисапробные (грязные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)		
Индекс чистоты воды ОЧБ/СБ	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	α-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)	β-мезосапробные (загрязненные)		
Численность активно функционирующих бактерий	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые		
Общее микробное число	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые		
Бактерии группы кишечной палочки	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые	Чистые		

2016 г. как α -мезосапробные, в феврале и марте 2016 г. — как β -мезосапробные, а в мае — как полисапробные (табл. 2).

Численность активно функционирующих бактерий (АФБ) в поверхностном слое воды варьировала от 0.1 в январе до 0.35 млн кл/мл в мае, среднее значение этого параметра составило 0.17 млн кл/мл. Количество АФБ в придонном слое оз. Белого изменялось от 0.07 млн кл/мл в январе до 0.36 млн кл/мл в марте при среднем значении этого параметра за период исследований 0.22 млн кл/мл (табл. 1). Достоверных различий в распределении величин АФБ между двумя слоями водной толщи не было обнаружено. Доля АФБ в составе ОЧБ в поверхностном и придонном горизонтах озера также варьировала в близких диапазонах — от 1.48% в феврале до 17.42% в мае и от 1.72% в январе до 14.56% в мае соответственно.

Значения такого показателя, как ОМЧ, традиционно выражают в КОЕ/мл, они отражают общее число колоний гетеротрофных бактерий, вырастающих в плотной среде стандартного состава в течение 24 ч при температуре 37°C [18]. Значения ОМЧ в поверхностном слое воды оз. Белого варьировали от 17 до 127 КОЕ/мл (в среднем 63 КОЕ/мл). Наименьшие значения ОМЧ отмечены в январе и марте, а наибольшие — в мае. Значения ОМЧ в придонном слое варьировали от 23 КОЕ/мл в марте до 225 КОЕ/мл в мае, в среднем для слоя воды 106 КОЕ/мл. Значения ОМЧ в пробах воды из придонного слоя варьировали в большей степени и во все сроки наблюдений оказались выше, чем в пробах из поверхностного слоя воды.

Согласно [4], значения ОМЧ для чистых открытых пресных водоемов составляют 1000–1500 КОЕ/мл. Таким образом, открытые воды оз. Белого в зимне-весенний период 2015–2016 гг. по этому показателю относятся к чистым, поскольку величины ОМЧ для них составляют <1000 КОЕ/мл. В то же время надо иметь в виду, что ОМЧ водоемов традиционно определяют в летний период, когда уровень развития бактериопланктона значительно выше, чем в зимне-весенний сезон.

Для оценки санитарного состояния водоема очень важно обнаружение в воде БГКП. Их наличие свидетельствует об имевшем место фекальном загрязнении воды и, как следствие, — о возможной ее контаминации БГКП. Согласно [15], в открытых природных водоемах хозяйственно-бытового (рекреационного) на-

значения содержание БГКП не должно превышать 500 КОЕ/100 мл. Согласно результатам исследований авторов, БГКП в водах оз. Белого во всех случаях, кроме одного, присутствовали только в придонном горизонте, причем в относительно небольших количествах — от 20 до 135 КОЕ/100 мл. В поверхностном слое БГКП были выявлены только в мае 2016 г. в количестве 20 КОЕ/100 мл (табл. 1). В целом, по таким санитарно-микробиологическим показателям, как ОМЧ и БГКП, воды оз. Белого в зимне-весенний период можно отнести к чистым (табл. 2).

Таким образом, проведенные исследования показали, что воды оз. Белого в зимне-весенний период 2015–2016 гг. по уровню трофности (параметр — “содержание Хл *a*”), согласно классификации Н.П. Китаева [7], относятся к эвтрофным, а по уровню сапробности (параметр “ОЧБ”), согласно ГОСТ [5], в большинстве случаев к полисапробным. Ранее, в 2012 г., на основании среднегодового значения ОЧБ поверхностные воды оз. Белого также были отнесены авторами к полисапробным, тогда как по среднегодовым величинам ОЧБ за 2010 и 2011 гг. они были классифицированы как α -мезосапробные [1, 6].

Считается, что параметр “содержание Хл *a*” точнее отражает трофический статус озера и при соблюдении определенных условий полнее передает продукционный потенциал фитопланктона [2], чем, например, скорость фотосинтеза, которая в большей мере зависит от меняющихся погодных условий. Интересно отметить, что еще в 1930-х гг. оз. Белое уже соответствовало эвтрофному статусу, а в его донных осадках были отмечены процессы анаэробной деструкции органического вещества [9]. Обнаруженные авторами в оз. Белом концентрации Хл *a* варьировали в широких пределах — от 19 до 68 мкг/л; причем, они сохранялись на высоком уровне даже в придонном слое воды. Установленные авторами ранее годовые максимумы Хл *a* в оз. Белом составляли в начале августа 2010 г., в конце апреля 2011 г. и в конце ноября 2012 г. соответственно 99.4, 95.4 и 55.5 мкг/л [1, 6]. Таким образом, максимальные значения Хл *a* в зимне-весенний сезон 2015–2016 г. были близки к установленным ранее годовым максимумам этого параметра. Это свидетельствует о сохранении высокого уровня развития фитопланктонного сообщества оз. Белого даже в зимний период; причем, чаще всего воды этого озера имеют эвтрофный статус.

ОЧБ, как и содержание Хл *a*, — относительно стабильный показатель, который отражает уро-

вень развития гетеротрофного бактериоценоза и, соответственно, интенсивность процессов микробной деструкции органического вещества. Высокая ОЧБ (от 3.84 до 10.59 млн кл/мл), зарегистрированная авторами в зимне-весенний период 2015–2016 гг., вполне согласуется с численностью бактериопланктона, наблюдавшейся ранее в этот же период в 2010–2011 гг. (от 3.04 до 11.52 млн кл/мл) [1, 6]. Обнаруженные значения ОЧБ оказались значительно выше таковых, отмеченных С.И. Кузнецовым в 1931 г., — максимум ОЧБ в поверхностном слое воды оз. Белого был отмечен им в июле, при этом среднее значение составило 2.67 млн кл/мл, а минимум — в феврале, когда среднее значение ОЧБ составило 0.38 млн кл/мл [9].

Уровень развития СБ — косвенный показатель интенсивности процессов деструкции легкоокисляемого органического вещества и также используется для оценки сапробности водоемов. В период исследований — в 2015–2016 гг. — этот параметр варьировал на порядок — от 4500 до 95 000 кл/мл (табл. 1). По результатам более ранних исследований авторов, численность СБ в оз. Белом колебалась на два порядка — от 950 (в декабре 2010 г. и январе 2011 г.) до 95 000 кл/мл (в апреле и августе 2011 г.) [1]. При сравнении данных по ОЧБ и численности СБ можно заметить, что первые варьируют в пределах одного порядка, тогда как размах колебаний вторых может составлять порядок и более. Большие пространственные флуктуации численности СБ на фоне относительно стабильной ОЧБ, по [14, 24], — четко выраженная реакция микроорганизмов на изменения условий окружающей среды. С этим, очевидно, связан большой разброс оценок степени сапробности воды в оз. Белом (от олигосапробных до полисапробных), сделанных на основе СБ, по сравнению со сделанными на основе ОЧБ (в большинстве случаев — полисапробные) (табл. 2).

Интересно сопоставить наблюдаемые авторами в 2015–2016 гг. величины ОМЧ и СБ в оз. Белом. Очевидно, что корреляция между этими двумя показателями отсутствует, несмотря на то, что они отражают численность в водоеме микроорганизмов одной и той же группы — сапротрофных бактерий. Известно, что численность водных бактерий в жидких питательных средах всегда бывает выше, чем в плотных того же состава, и это чаще всего связывают с тем, что жидкие среды более благоприятны для развития водных бактерий [14]. Подобные различия величин этих показателей представлены и в настоящем ис-

следовании. На это накладываются и различия условий инкубирования посевов — ОМЧ определяли при рекомендованной в [12] температуре 37°C, а СБ — при температуре 20°C как наиболее часто используемой при учете численности микроорганизмов в озерах умеренных широт. Понятно, что при 37°C способны развиваться лишь относительно немногие микроорганизмы, источниками которых чаще всего являются люди и теплокровные животные. Вместе с тем оба этих показателя были постоянно выше в придонном горизонте, чем в поверхностном слое воды; и, таким образом, они оба указывают на общую закономерность — преобладание по численности СБ в придонном горизонте оз. Белого.

Численность АФБ для Косинских озер впервые определена авторами в 2010 г. [6]. Известно, что доля АФБ в составе пресноводного бактериопланктона может варьировать от 0.04 до почти 100% [19], однако в большинстве случаев доля этого микробиологического параметра в озерах средней полосы варьирует в пределах 2.5–20% [23]. По наблюдениям авторов, в 2010 г. в оз. Белом доля АФБ в ОЧБ составила 1.8–63.0%; причем, наибольшее их количество было выявлено в сентябре. В 2011 г. этот показатель варьировал от 0.1 до 46.4%, причем наибольшее количество — в августе. По данным за 2015–2016 гг. (основа настоящего исследования), численность АФБ в зимне-весенний период варьировала от <2 до 15–17% как в поверхностном, так и в придонном горизонтах. Поскольку параметры “численность АФБ” и “доля АФБ в составе ОЧБ” введены в практику микробиологических исследований относительно недавно, то в нормативные таблицы и классификации сапробности вод эти параметры пока не вошли. Однако уже есть работы, авторы которых пытаются соотнести численность АФБ в водоеме с уровнем его загрязнения. Например, согласно [21], установленная авторами численность АФБ в водах оз. Белого соответствует уровню развития АФБ в незагрязненных водоемах.

ВЫВОДЫ

Эвтрофикация водоемов, испытывающих значительную рекреационную нагрузку, создает благоприятные условия для развития в них патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Поэтому при эколого-микробиологических исследованиях необходимо обращать внимание на численность в водоемах тех микроорганизмов, наличие которых может указывать на присутствие в составе бактериопланктона патогенных и условно-патогенных форм микроорганизмов.

Инновационные тест-системы Петрифилмы [17] изначально были предназначены для количественного определения именно этих микроорганизмов, но только в бутилированной воде. Как показывает настоящее исследование, эти тест-системы позволяют оперативно учитывать ОМЧ также и в озерах; причем, из-за простоты метода это возможно делать даже непосредственно в полевых условиях. Очевидно, что в этом плане Петрифилмы представляют большой интерес для водных микробиологов.

В целом, проведенные авторами исследования показали, что даже в зимний период при температуре воды от 0 до 4°C в ней могут развиваться микроорганизмы, способные к росту при 37°C. Обращает на себя внимание также постоянное присутствие в придонном слое воды оз. Белого в период наблюдений в заметных количествах БГКП, тогда как в поверхностном ее слое, где температура воды варьировала около 0°C, микроорганизмы этой группы уже не выявлялись. Кроме того, согласно полученным данным, в придонном горизонте постоянно присутствовало значительно большее количество СБ, чем в поверхностном слое воды. Отсюда следует, что в придонном горизонте даже в зимний сезон может сохраняться резервуар условно патогенных бактерий. Весной и осенью при сезонных процессах перемешивания глубинных и поверхностных вод эти бактерии неизбежно окажутся в поверхностном слое воды и, как следствие, в период массового посещения оз. Белого населением могут стать причиной вспышки кишечных заболеваний. Полученные результаты указывают на необходимость организации регулярных микробиологических наблюдений не только на водоемах, используемых для водоснабжения населения, но и на водоемах, имеющих рекреационное значение. При этом особое внимание надо уделять придонным горизонтам водоемов, которые при стандартных отборах проб воды на санитарно-микробиологический анализ чаще всего остаются без внимания, поскольку забор проб проводится только из поверхностного слоя воды. Очевидно, что такой отбор проб из придонных слоев воды желательно проводить также и в летний период времени, поскольку в условиях летней стратификации вод там вполне вероятна локализация потенциально-патогенных микроорганизмов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акулова А.Ю., Ильинский В.В., Мошарова И.В., Москвина М.И., Мошаров С.А., Комарова Т.И. Состоя-

- ние гетеротрофного бактериопланктона прибрежья озер Святое и Белое природно-исторического парка “Косинский” (город Москва) в 2011 году // Изв. Самарского НЦ РАН. 2014. Т. 16. № 1. С. 1185–1192.
2. Бульон В.В. Закономерности первичной продукции в лимнических экосистемах. СПб.: Наука, 1994. 222 с.
3. Вагнер Б.Б., Дмитриева В.Т. Озера и водохранилища московского региона. Учебное пособие по курсу “География и экология Московского региона”. М.: МГПУ, 2004. 105 с.
4. Гончарук Е.И. Коммунальная гигиена. Киев: Здоровье, 2006. 792 с.
5. ГОСТ 17.1.2.04-77 Охрана природы. Гидросфера. М.: Изд-во стандартов, 2000.
6. Ильинский В.В., Мошарова И.В., Акулова А.Ю., Мошаров С.А. Современное состояние гетеротрофного бактериопланктона Косинского Трехозерья // Вод. ресурсы. 2013. Т. 40. № 5. С. 477–487.
7. Китаев Н.П. Экологические основы биопродуктивности озер разных природных зон. М.: Наука, 1984. 129 с.
8. Кондакова Г.В. Санитарная микробиология. Ярославль: ЯрГУ, 2005. 84 с.
9. Кузнецов С.И. Применение микробиологических методов к изучению органического вещества в водоемах // Микробиология. 1949. Т. XVIII. Вып. 3. С. 203–215.
10. Маторин Д.А., Алексеев А.А. Флуоресценция хлорофилла для биодиагностики растений. М.: ПКЦ “Альтекс”, 2013. 364 с.
11. Методические основы комплексного экологического мониторинга океана / Под ред. Цыбань А.В. М.: Гидрометеиздат, 1988. 286 с.
12. Методические рекомендации № 24 ФЦ/6289. Методы определения колиформных бактерий, бактерий вида *E. coli* с применением пластин “Petrifilm” производства компании 3М (США). М.: Минздрав РФ, 2006.
13. Мошарова И.В., Ильинский В.В., Корсак М.Н. Экологический мониторинг водных экосистем на основе нового микробиологического метода // Безопасность в техносфере. 2016. № 4. С. 23–29.
14. Практическая гидробиология. Пресноводные экосистемы. Учеб. для студ. биол. спец. университетов / Под ред. Федорова В.Д., Капкова В.И. М.: ПИМ, 2006. 367 с.
15. СанПиН 2.1.5.980-00 Гигиенические требования к охране поверхностных вод. 1 января 2001 г.
16. Сидорова Н.А., Паршуков А.Н. Вопросы санитарного нормирования пресноводных экосистем севера с помощью микробиологических тестов // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних во-

- доемов Европейского севера. Материалы XXVIII междунар. конф. Петрозаводск, 2009. С. 509–511.
17. Соколов Д.М., Нечаев Д.Н. Петрифилмы — инновационные тест-системы для микробиологического контроля питьевой воды // Водоснабжение и санитарная техника. 2013. № 5. С. 38–42.
 18. Тымчук С.Н., Ларин В.Е., Соколов Д.М., Соколов М.С. Основные принципы санитарно-микробиологической оценки воды, предназначенной для потребления человеком // Экол. вестн. России. 2013. № 6. С. 20–30.
 19. Dufour P., Torretton J.P., Colon M. Advantages of distinguishing the active fraction in bacterioplankton assemblages: some examples // Hydrobiologia. 1990. V. 207. P. 295–301.
 20. Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C., Wright S.W. Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods. Paris: UNESCO Publ., 1997. 661 p.
 21. Schumann R., Schiewer U., Karsten U., Rieling T. Viability of bacteria from different aquatic habitats. II. Cellular fluorescent markers for membrane integrity and metabolic activity // Aquat. Microb. Ecol. 2003. V. 32. P. 137–150.
 22. Sherr B., Sherr E., del Giorgio P. Enumeration of total and highly active bacteria // Methods in Microbiol. Marine Microbiol. V. 30 / Ed. John H. Paul. Academic Press. 2001. P. 129–160.
 23. Sondergaard M., Danielsen M. Active bacteria (CTC+) in temperate lakes: temporal and cross-system variations // J. plankton res. 2001. V. 23. № 11. P. 1195–1206.
 24. Van Es F.B., Meyer-Reil L.A. Biomass and metabolic activity of heterotrophic marine bacteria // Adv. Microbiol. Ecol. 1982. V. 6. P. 111–170.

ECOLOGICAL–MICROBIOLOGICAL STUDIES OF LAKE BELOE IN WINTER AND SPRING WITH THE USE OF INNOVATION TEST-SYSTEMS

© 2019 I. V. Mosharova^{1,2,*}, V. V. Il'inskiy¹, S. A. Mosharov², and A. Yu. Akulova¹

¹Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

²Shirshov Institute of Oceanology, Moscow, 117997 Russia

*e-mail: ivmpost@mail.ru

Received: 04.02.2018

Revised version received: 28.03.2018

Accepted: 26.04.2018

Chlorophyll *a* concentration, the total abundance of bacteria, the number of bacterial cells with active metabolism, and the abundance of saprotrophic bacteria were studied in the surface and bottom water layers of Lake Beloe in winter and spring 2015–2016. The abundance of sanitary-indicator microorganisms was determined for the first time with the use of Petrifilm test-systems (3MTM Petrifilm™). In most cases, Lake Beloe water in spring and winter was found to correspond to eutrophic level (in terms of chlorophyll *a* concentration in water) and polysaprobic status (in terms of microbiological indices). By its sanitary-microbiological characteristics, the lake is clear—the values of the total microbial count, determined with the use of test-systems 3M™ Petrifilm™ Aqua (AQHC), were <1000 CFU/mL, and the abundance of coliform bacteria, determined with the use of test-systems 3M™ Petrifilm™ Aqua (AQCC), varied from 20 to 135 CFU/100 mL. Coliform bacteria were mostly found in the bottom water layer. It was shown that, in the organization of ecological–microbiological studies, special attention is to be paid to the bottom horizons of water bodies.

Keywords: bacterioplankton, actively functioning bacteria, chlorophyll *a*, lakes of temperate latitudes, petrifilms (3M™ Petrifilm™), sanitary-indicator microorganisms

DOI: 10.31857/S0321-0596466621-628