

Совершенствование методики оценки гетеротрофной активности пресноводных бактерий. Вопросы качества воды

Д-р биол. наук, профессор
А.П. Садчиков –
 Международный
 биотехнологический центр,
 Московский государственный
 университет имени
 М.В. Ломоносова;
 д-р биол. наук
С.А. Остроумов – ведущий
 научный сотрудник
 лаборатории физико-химии
 биомембран Биологического
 факультета, Московский
 государственный университет
 имени М.В. Ломоносова

@ ar55@yandex.ru

Ключевые слова:

водоросли, бактерии,
 водные микроорганизмы,
 гетеротрофная активность,
 фитопланктон, растворенное
 органическое вещество (РОВ),
 сорбция РОВ на детрите,
 мембранные фильтры

Keywords:

algae, bacteria, aquatic
 microorganisms, heterotrophic
 activity, phytoplankton,
 dissolved organic matter
 (DOM), sorption of DOM on
 detritus, membrane filters

IMPROVEMENT OF THE METHOD FOR ASSESSMENT OF THE HETEROTROPHIC ACTIVITY OF FRESHWATER BACTERIA BY STUDYING HOW BACTERIAL COMMUNITY CONSUMES THE ORGANIC MATTER EXCRETED BY ALGAE: ISSUES OF WATER QUALITY

Sadchikov A.P., Doctor of Sciences, Professor – International Biotechnology Center, Moscow State University;

Ostroumov S.A., Doctor of Sciences – Faculty of Biology, Moscow State University, ar55@yandex.ru

The article describes an improved and approved methodology for assessing the heterotrophic activity of freshwater bacteria using a specific example. Namely, the example of studying the bacterial consumption of organic matter excreted by algae. Utilization of organic substances in water bodies by microorganisms and their oxidation are an important part of the functioning of aquatic ecosystems and water self-purification. This article details innovative modifications to the method based on the use of ^{14}C -labeled organic matter by aquatic organisms. All these methods and techniques have been tested in the study of production and destruction processes in freshwater ecosystems of different trophic levels including mesotrophic, eutrophic and hypertrophic surface ecosystems.

В статье описана усовершенствованная и апробированная методика оценки гетеротрофной активности пресноводных бактерий на конкретном примере. А именно – на примере исследования потребления прижизненных и посмертных выделений водорослей бактериальным сообществом. Утилизация органических веществ в водоемах микроорганизмами и их окисление являются важной частью функционирования водных экосистем и самоочищения воды. В данной статье подробно изложены инновационные модификации методов использования меченого ^{14}C органического вещества водными организмами. Все эти методики апробированы при изучении продукционно-деструкционных процессов в пресноводных экосистемах разного трофического уровня.

ВВЕДЕНИЕ

Для формирования качества воды в водных экосистемах, в том числе имеющих рыбохозяйственное значение, существенную роль играют экологические и биохимические процессы, в которых происходит утилизация растворенного органического вещества (РОВ) бактериальным сообществом водных экосистем.

Водоросли прижизненно и посмертно выделяют в среду РОВ, которое в дальнейшем утилизируется бактериальным сообществом и самими водорослями. Исследования в этом направлении проводятся в основном в лабораторных условиях с использованием меченых низкомолекулярных органических соединений (в основном глюкозы, аминокислот и др.). Работ, в которых экспериментально показано потребление именно прижизненно выделенного водорослями РОВ в водоемах, очень мало, что во многом связано с методическими и техническими трудностями. Нами проведено большое количество методических и экспериментальных работ по изучению прижизненных и посмертных выделений фитопланктона и утилизации их бактериальным сообществом – одиночными и агрегированными клетками [1; 2; 3]. Все эти методики апробированы при изучении продукционно-деструкционных процессов в пресноводных экосистемах разного трофического уровня. Этими работами мы и хотим поделиться с читателями.

Радиоизотопный метод определения первичной продукции практикуется около 70 лет, однако он все же далек от совершенства. В работе В.И. Романенко, С.И. Кузнецова [4] методические вопросы изучения продукционно-деструкционных процессов в водоемах описаны подробно. Однако в последнее время накопилось много новых данных методического характера, которые позволяют проводить работу на принципиально новом уровне.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Изучение гетеротрофной активности бактерий. Пробы воды отбирали в поверхностном слое водоема, разливали в светлые и темные склянки объемом 250 мл, добавляли $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ с таким расчетом, чтобы в 1 мл воды было не менее 100 тыс. имп/мин. Контроль за количеством внесенной метки осуществляли отбором из опытной склянки 1 мл воды для последующего определения ее радиоактивности на счетчике «Rackbeta 1217» (фирма LKB, Швеция). Работы с радиоактивными веществами выполняли в лаборатории изотопного анализа биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Опытные склянки экспонировали в водоеме в течение 4 часов на глубине 0,25 м [5].

Для определения продукции водорослей содержимое склянок (после завершения экспозиции) фильтровали через мембранные фильтры с порами размером 1,4 мкм. Полученный фильтрат в дальнейшем фильтровали через фильтр, с порами размером 0,2 мкм, для удаления бактерий. Фильтры в дальнейшем обрабатывали слабым раствором HCl [4], промывали в дистиллированной воде, высушивали и помещали в сцинтилляционные флаконы для просчета на счетчике.

Фильтрат (после удаления бактерий) подкисляли 0,1 N раствором HCl до pH 3 и продували воздухом в течение 30 минут. Проведенные методические опыты [5; 6] показали, что такой способ обработки проб удаляет практически всю оставшуюся меченую соду (см. ниже). Затем pH фильтрата доводили до исходного значения и 1 мл пробы с меченым РОВ вносили в сцинтилляционные флаконы для последующего анализа.

Фильтрацию проб осуществляли при разрежении 300 мм рт. ст.

Полученный таким способом фильтрат с меченым РОВ разливали в две серии стерильных темных склянок объемом 50 мл. Затем в каждую склянку добавляли по 5 мл воды, взятой из водоема. В первую серию склянок вносили воду, предварительно профильтрованную через фильтр с порами размером 4 мкм. В ней сообщество микроорганизмов было в основном представлено прикрепленными и свободноживущими формами¹ (фитопланктон в водоемах в основном имеет размеры более 4 мкм, поэтому в эту фракцию он практически не попадал). Во вторую серию склянок вносили бактериальное сообщество, состоящее в основном из свободноживущих микроорганизмов (воду фильтровали через фильтр с порами размером 1,5 мкм). Затем сосуды экспонировали в лаборатории при температуре, близкой к температуре водоема. Экспозиция составляла 8 часов.

После экспозиции воду из каждой склянки фильтровали через мембранные фильтры с порами размером 0,2 мкм и определяли количество потребленного бактериями РОВ. Оставшийся фильтрат подкисляли до pH 3, продували воздухом по описанной выше методике, и определяли радиоактивность оставшегося (неиспользованного) меченого РОВ. Дыхание бактерий находили по разности между количеством внесенной, ассимилированной и оставшейся метки. На всех стадиях эксперимента в сосудах определяли количество бактериопланктона [4], на основании чего и рассчитывали их удельную активность (т.е. пересчитывали потребление на одну клетку). Расчеты удельной активности бактерий вели с учетом изменения их численности в процессе опыта. Бактерий отфильтровывали на мембранных фильтрах (размер пор – 0,2 мкм) и окрашивали акридиновым оранжевым; подсчет клеток проводили под эпилюминесцентным микроскопом ЛЮОМAM-1И (Россия) (увеличение 1200×).

В водоемах присутствует взвешенный в толще воды детрит, численность которого составляет несколько десятков тысяч в одном миллилитре воды. Он является хорошим сорбентом. Для определения сорбции меченого РОВ на детрите в склянки вносили 5 мл воды с прижизненно выделенным водорослями РОВ. Воду предварительно фильтровали через фильтр с порами размером 4 мкм. Затем пробы инкубировали в течение 4-6 часов. Для прекращения жизнедеятельности микроорганизмов в сосуды добавляли антибиотик стрептомицин в количестве 50 мкг/мл [5].

Прижизненное выделение РОВ фитопланктоном. При изучении продукционных процессов фитопланктона необходимо учитывать прижизненные выделения РОВ, величины которых могут быть суще-

¹ Наши исследования показали, что в водоеме около 80-90% бактерий представлены одиночными клетками. Остальное приходится на долю колониальных бактерий и детритно-бактериальных ассоциаций [7].

ственными, до 50% и более от ассимилированного при фотосинтезе углерода [8; 9]. При экспериментальном изучении прижизненных выделений необходимо обращать внимание на ряд факторов, которые могут вносить ошибку в результаты исследований. К примеру, при «грубой» фильтрации проб воды через мембранные фильтры происходит повреждение клеток водорослей и поступление их содержимого в анализируемый фильтрат. Это создает видимость интенсивного выделения РОВ водорослями. Кроме того, необходимо удалять из фильтрата неиспользованную водорослями меченую соду ($\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$). По нашим сведениям, фитопланктон в течение вегетационного сезона потребляет только 30-70%, внесенной в производственную склянку $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$, остальное, соответственно, остается неиспользованной [10; 11; 12]. Поэтому удаление неиспользованной $^{14}\text{CO}_2$ является одной из наиболее важных процедур эксперимента. Необходимо также иметь в виду, что мембранные фильтры, (особенно на целлюлозной основе) активно сорбируют органический и минеральный углерод, и «отмыть» их практически невозможно. К примеру, мембранные фильтры на целлюлозной основе сорбируют до 40-45% добавленного в воду меченого по ^{14}C белка и около 4% меченых аминокислот [12]. В абсолютных величинах этот показатель составляет несколько тысяч имп/мин, что близко к значениям внеклеточной продукции водорослей. Поэтому сорбция органических выделений необходимо учитывать при анализе данных экспериментов.

Эксперименты проводили в летнее время в водоемах разного трофического уровня. В течение исследованного периода в водоемах измеряли продукцию размерных групп фитопланктона радиоуглеродным методом. Работы с мечеными веществами выполняли в лаборатории изотопного анализа биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Пробы воды отбирали с глубины 0,5 м (в водохранилище и эвтрофном пруду) и 10-15 см (в высокотрофном водоеме) в тонкостенные склянки марки «Пирекс» (Pirex) из боросиликатного стекла, которое по своим оптическим показателям превосходит другие марки стекла. Объем склянок 350 мл, толщина стенок – 0,3 мм. Производственные склянки представляли собой цилиндр с двумя отверстиями с противоположных сторон, закрывающиеся притертыми пробками. Склянки с открытыми отверстиями осторожно погружали в воду на определенную глубину и закрывали пробками. Такой способ отбора проб позволял до минимума свести повреждение колоний фитопланктона при отборе проб.

В склянки (светлые и темные) добавляли $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$, с таким расчетом, чтобы в 1 мл воды было около 100 тыс. имп./мин, и экспонировали *in situ* в течение 4 часов (с 9 до 13 ч). Так как в склянках большого объема происходит затенение водорослей, то в наших экспериментах использовали склянки диаметром 30 мм. Продукцию водорослей и бактерий рассчитывали по формулам, описанным в методическом руководстве [4] с учетом темновой ассимиляции ^{14}C и сорбции ^{14}C фильтрами.

В природных условиях планктон (в том числе бактериопланктон и фитопланктон) существует в турбулентном потоке воды (особенно в верхнем слое), который улучшает снабжение клеток питательными

веществами и удаляет продукты метаболизма. Кроме того, токи воды препятствуют оседанию клеток, которое обычно происходит при экспозиции склянок. Поскольку в склянках перемешивание не происходит, то часть клеток быстро оседает на дно сосуда, другие (в частности, цианобактерии), наоборот, всплывают. В результате этого ухудшаются условия освещения и обмена клеток с окружающей средой, что сказывается на интенсивности фотосинтеза. Чтобы в какой-то мере увеличить перемешивание воды в склянках во время их экспонирования в толще воды, каждую склянку подвешивали к буйку на специальном пружинном устройстве. Парусность буйка и пружинное устройство даже при небольшом волнении способствует «перемешиванию» пробы.

Для того, чтобы в светлой и темной склянке было одинаковое количество метки, их соединяли куском силиконового шланга и, попеременно меняя высоту склянок, осторожно перемешивали их содержимое.

Предварительные эксперименты показали, что для экспозиции проб достаточно 4 часов (при проведении опытов в летнее время с 10 до 14 ч.). После экспонирования пробу фильтруют через мембранные фильтры. Прежде всего, необходимо определить, при каком разрежении наблюдаются наименьшие потери содержимого водорослей за счет возможного их разрушения. Для этого фитопланктон из первой серии проб фильтровали через мембранные фильтры (размер пор – 0,85 и 0,2 мкм) при разрежении 200, 300, 400, 500 и 700 мм рт. ст. Вторую (контрольную) серию проб фильтровали практически без разрежения, в два этапа:

- без разрежения, самотеком через фильтры с порами 4 мкм (на этих фильтрах задерживалась основная масса водорослей);
- полученный фильтрат (содержащий организмы размером менее 4 мкм) фильтровали через фильтры с порами 0,85 и 0,2 мкм при минимальном разрежении (около 100 мм рт. ст.).

Такой способ фильтрации позволяет отфильтровывать водоросли с минимальными потерями их содержимого. Полученный безбактериальный фильтрат из двух серий проб подкисляли до величины рН 3, продували воздухом в течение 30 минут [11]. Затем отбирали аликвоту объемом 1 мл и определяли ее радиоактивность на сцинтилляционном счетчике «Rackbeta 1217» (фирма LKB, Швеция). Фильтры и сосуды с меченым РОВ до их анализа на счетчике хранили в холодильнике при температуре около 5°C.

Проведенные эксперименты установили, что показатели радиоактивности фильтрата при разрежении 200, 300 и 400 мм рт. ст., практически не различались. При более высоких значениях разрежения наблюдались небольшие различия в результатах; при 500 мм рт. ст. радиоактивность фильтрата в опыте была на 10% выше, чем в контроле, а при 700 мм рт. ст. – на 15-20%. Это указывает, что в фильтрат поступает содержимое разрушенных водорослей. Таким образом, фильтрация проб при разрежении до 0,5 атм. (т.е. до 380 мм рт. ст.) вполне приемлема при проведении работ по изучению прижизненных выделений водорослей.

Объем фильтруемой пробы также оказывает влияние на получение достоверных результатов. При фильтрации больших объемов проб поры фильтров «заби-

ваются» водорослями, что приводит к их разрушению. Кроме того, возможно самопоглощение метки клетками водорослей.

Чтобы определить наиболее приемлемый объем фильтруемой пробы, был проведен следующий эксперимент. Меченый по ^{14}C фитопланктон из мезотрофного, эвтрофного и гипертрофного водоемов фильтровали через фильтры (размер пор 1,5 мкм) объемом проб 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30 и 50 мл. Далее фильтры помещали в пары концентрированной HCl , высушивали и анализировали их радиоактивность на счетчике [4]. Радиоактивность образцов (в пересчете на 1 мл объема пробы) различалась на 30-40%. Наибольшие величины продукции водорослей наблюдались при фильтрации 5-10 мл воды (из мезотрофного и эвтрофного водоемов) и 3-5 мл (из гипертрофного водоема), а наименьшая – при фильтрации 30-50 мл. Эти показатели необходимо учитывать при изучении продукции фитопланктона в разных по трофности водоемах.

Исследования показали, что при доминировании в водоеме диатомовых (к примеру, *Asterionella*, *Tabellaria*) и динофитовых (*Ceratium*) водорослей эффективность счета снижается больше, чем при развитии цианобактерий. Жесткие стенки этих водорослей задерживают излучение, что влияет на результаты счета. Поэтому при изучении сезонной динамики продукции в водоеме необходимо регулировать объем фильтруемой пробы, в зависимости от видового состава фитопланктона и его количества (особенно во время цветения водорослей). Это связано с тем, что изотоп ^{14}C имеет слабое β -излучение, которое может гаситься (задерживаться) стенками водорослей.

В каждом опыте использовали склянки в 5 повторностях (для повышения статистической значимости результатов). В полевых условиях человек быстро устает, особенно при непогоде. Поэтому всегда есть вероятность, что в склянки может попасть неодинаковое количество метки. Бывает очень досадно, если какой-то результат «выбивается» из общего фона показателей, тем более невозможно объяснить, с чем это связано. Чтобы исключить это, из каждой склянки отбирали по 1 мл воды для последующего определения радиоактивности воды в пробе.

При работе с меткой использовали автоматические пипетки фирмы «Gilson S.A.S.» (Франция) объемом 1 и 5 мл со сменными одноразовыми наконечниками, исключаящими «налипание» капель на внутренней поверхности. Пипетки регулярно калибровались. Это связано с тем, что в полевых условиях, скорее всего влажность, отрицательно влияла на работу пипеток. Для этого пипеткой определенного объема отбирали бидистиллированную воду, выливали ее на вымытые и высушенные предметные стекла и взвешивали на весах. По разнице определяли количество отобранной пипеткой воды и вычисляли «ошибку» ее работы. Удельную массу воды принимали за 1.

Посмертное выделение органического вещества водорослями при их отмирании. Эксперименты проводили в мезотрофном (с чертами эвтрофии) Можайском водохранилище и в эвтрофном пруду. Пробы отбирали 0,5-метровом слое в две серии склянок объемом по 250 мл. В одну серию добавляли $\text{NaN}^{14}\text{CO}_3$ с таким расчетом, чтобы в 1 мл было около 100 тыс. имп /мин и экспонировали в люминистате

в течение одних суток; другую серию склянок экспонировали без ^{14}C . Затем содержимое обеих склянок фильтровали (по 50 мл) через мембранные фильтры (размер пор 1,5 мкм).

Часть фильтров с мечеными водорослями помещали в сцинтилляционный счетчик «Rackbeta 1271» (Швеция) для определения исходной радиоактивности. Другую серию – нагревали до 50°C (в течение 3 ч) и затем замораживали до -18°C (6 ч). Получали, таким образом, убитые водоросли, которые условно назвали «детритом». Аналогичным образом готовили и немеченый «детрит». Методика получения водорослевого «детрита» описана в работах [13; 14; 15].

Затем к фильтру с меченым детритом приклеивали тонкую капроновую нить и подвешивали в склянке, заполненной стерильной водой из водоема. Фильтры с немеченым детритом помещали в склянки с водой из водоема с естественным сообществом бактерий (предварительно отфильтровывали водоросли через фильтры с порами 4 мкм). Опытные склянки осторожно перемешивали на качалке в течение 30 минут, затем помещали в темный шкаф, где хранили в течение всего эксперимента; склянки периодически осторожно перемешивали.

Отбор проб для дальнейших экспериментов проводили на 1-, 3-, 7- и 15-й день. Из серии склянок с меченым «детритом» отбирали аликвоту воды и фильтровали ее через мембранный фильтр (размер пор 0,2 мкм) для удаления взвеси. Фильтрацию проб осуществляли при разрежении 300 мм рт. столба [5]. Полученный фильтрат подкисляли до величины pH 3, продували воздухом в течение 30 минут и определяли его радиоактивность на сцинтилляционном счетчике. Таким образом, получали количество, выделившегося при разрушении «детрита» (т.е. убитых водорослей), меченого РОВ. При расчетах учитывали сорбцию ^{14}C фильтром [12].

В склянках с немеченым «детритом» в течение эксперимента (т.е., на 1-, 3-, 7- и 15-й день) определяли общую численность бактерий (одиночных и агрегированных клеток). Бактерий отфильтровывали на мембранных фильтрах (размер пор 0,2 мкм) и окрашивали акридиновым оранжевым. Подсчет клеток проводили с помощью эпилуминесцентного микроскопа ЛЮАМ-1И (увеличение 1200 х). Этих бактерий использовали для наблюдения за скоростью трансформации РОВ, образовавшегося при разрушении «детрита», а также удельной гетеротрофной активности микроорганизмов. Для этого фильтрат с меченым РОВ, полученным в процессе эксперимента (на 1-, 3-, 7- и 15-й день), добавляли к бактериям, выращенным в склянках с немеченым «детритом». Пробы инкубировали в течение 6 часов, после чего бактерий фильтровали через фильтры для определения количества потребленного микроорганизмами меченого РОВ, а в собранном фильтрате (после подкисления до величины pH 3 и барботации) определяли конечное количество меченого РОВ.

В результате расчетов получали количество выделившегося из убитых водорослей (т.е. «детрита») РОВ в течение всего времени проведения эксперимента, его потребление бактериями, минерализацию потребленного органического вещества, удельную активность бактерий, а также количество неусвоенного бактериями РОВ.

Методика исследований гетеротрофной активности бактерий и размерных фракций водорослей. Эксперименты проводили на Можайском водохранилище (Московская область), которое по ряду гидробиологических показателей можно отнести к мезотрофному водоему с чертами эвтрофирования. В течение летне-осеннего времени с периодичностью три раза в месяц определяли потребление низкомолекулярных органических веществ (гидролизата белка, содержащего набор аминокислот и пептидов) водорослями размером 1,5-4 мкм, 4-20 мкм, 20-50 мкм, более 50 мкм и бактериями (фракция размером менее 1,5 мкм).

Пробы воды отбирали в поверхностном слое водоема (на глубине около 0,5 м), разливали в темные склянки (в 6 повторностях, чтобы повысить статистическую значимость результатов), добавляли ^{14}C -гидролизат белка фирмы Amersham (США), из расчета, чтобы в склянке было около 80 тыс. имп/мин в 1 мл воды. Сосуды экспонировали на глубине отбора проб в течение 8 часов. Количество внесенного в склянку белка составляло около 30 мкг С/л (рассчитывали исходя из его концентрации, указанной в техническом паспорте препарата).

После экспозиции содержимое склянок делили на несколько подпроб и фильтровали через сита с ячейей 50 мкм и 20 мкм методом обратной фильтрации. Затем фракцию водорослей менее 20 мкм фильтровали через мембранные фильтры с порами размером 4 мкм. В дальнейшем естественное сообщество фитопланктона и фракции водорослей (размер менее 50 мкм, менее 20 мкм и менее 4 мкм) фильтровали через мембранные фильтры с порами 1.5 мкм (в 6 повторностях), промывали чистой водой, высушивали и переносили в сцинтилляционные флаконы для анализа их радиоактивности. Для дальнейших расчетов использовали среднее значение радиоактивности шести фильтров каждой фракции водорослей [6; 10].

Из освобожденного от водорослей фильтрата отфильтровывали бактерии (в 6 повторностях) через фильтр с порами 0,2 мкм и анализировали их радиоактивность. В дальнейшем полученный фильтрат подкисляли до величины рН 3 и продували воздухом в течение 30 мин. для удаления, выделенного при дыхании микроорганизмов, $^{14}\text{CO}_2$ и измеряли его радиоактивность [10; 16; 17]. Также измеряли радиоактивность фильтрата до его подкисления и барботации. Подсчет радиоактивности образцов проводили на сцинтилляционном счетчике «Rackbeta 1217» (фирма LKB).

Интенсивность дыхания планктонного сообщества находили по разнице между количеством внесенного в экспериментальные сосуды меченого РОВ, потребленного фито- и бактериопланктоном и оставшегося в фильтрате после барботации.

Гетеротрофную активность организмов выражали в условных единицах потребленного меченого гидролизата белка в 1 ч (усл. ед./мл ч) [5].

Для учета сорбции метки фильтром и сестонном пробы воды с естественным сообществом фитопланктона (предварительно фиксировали формалином) и добавленной меткой (без предварительного экспонирования пробы) фильтровали через мембранные фильтры (в 3 повторностях), промывали чистой водой. Затем определяли радиоактивность пробы на счетчике. Полученные результаты учитывали при расчетах гетеротрофной активности фито- и бактериопланктона.

В экспериментах в качестве аналога легкоусвояемого РОВ использовали меченый по ^{14}C -гидролизат белка, содержащий набор аминокислот. Его концентрация составляла доли процента той, которая обычно наблюдается в мезо- и эвтрофных водоемах [18; 19]. Поэтому по интенсивности включения в клетки микроорганизмов меченого РОВ можно с некоторыми допущениями судить о процессах, протекающих в водоемах.

Количественная оценка гетеротрофной активности бактериального сообщества в водных экосистемах имеет большое теоретическое и практическое значение, поскольку эта активность является частью экологически важных процессов самоочищения воды в экосистемах [20-28].

Усовершенствованные методики, описанные выше, были успешно апробированы при изучении гетеротрофной активности бактериального сообщества в пресноводных водоемах разного уровня трофности, а именно в мезотрофных [27], эвтрофных [28] и высоко-котофных (гипертрофных) экосистемах.

ВЫВОДЫ

1. Разработаны методические усовершенствования и проведена модификация методики количественной оценки гетеротрофной активности бактериального сообщества на примере изучения потребления прижизненных и посмертных выделений водорослей бактериальным сообществом. Детализированное описание некоторых из этих методических усовершенствований публикуется впервые.
2. Методика включает в себя измерение радиоактивности образцов и использование $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$.
3. Предложенная методика учитывает процессы, связанные с утилизацией органического детрита в водной среде.
4. Разработанная методика успешно апробирована при изучении природных водных экосистем разных уровней трофности.

Выражаем благодарность студентам и аспирантам, которые участвовали в работе по изучению экологии пресноводных водоемов.

ЛИТЕРАТУРА И ИСТОЧНИКИ

1. Садчиков А.П., Остроумов С.А. Методические аспекты изучения продукционно-деструкционных процессов в водных экосистемах // Ecological Studies, Hazards, Solutions. 2018 a. Vol. 25. P.139-146.
1. Sadchikov A.P., Ostroumov S.A. Metodicheskie aspekty izucheniya produkcionno-destrukcionnyh processov v vodnyh ekosistemah // Ecological Studies, Hazards, Solutions. 2018 a. Vol. 25. pp.139-146.
2. Садчиков А.П., Остроумов С.А. Потребление низкомолекулярного органического вещества водорослями и бактериями (на примере мезотрофной экосистемы) // Ecological Studies, Hazards, Solutions. 2018 b. Vol. 25. P. 146-153.
2. Sadchikov A.P., Ostroumov S.A. Potreblenie nizkomolekulyarnogo organicheskogo veshchestva vodoroslyami i bakteriyami (na primere mezotrofnoj ekosistemy) // Ecological Studies, Hazards, Solutions. 2018 b. Vol. 25. pp. 146-153.
3. Садчиков А.П., Остроумов С.А. Совершенствование методологии при изучении гетеротрофной активности водорослей и бактерий // Ecological Studies, Hazards, Solutions. 2018 c. Vol. 25. P.153-160.
3. Sadchikov A.P., Ostroumov S.A. Sovershenstvovanie metodologii pri izuchenii geterotrofnoj aktivnosti vodoroslej i bakterij // Ecological Studies, Hazards, Solutions. 2018 c. Vol. 25. pp.153-160.

4. Романенко В.И., Кузнецов С.И. Экология микроорганизмов пресных водоемов. Лабораторное руководство. – Л.: Наука, 1974. 194 с.
4. Romanenko V.I., Kuznetsov S.I. *Ekologiya mikroorganizmov presnykh vodoemov. Laboratornoe rukovodstvo.* – L.: Nauka, 1974. 194 p.
5. Садчиков А.П., Куликов А.С. Трансформация прижизненно выделенного фитопланктоном органического вещества // Гидробиол. журн. – 1990. – Т. 26, № 6. С. 13-16.
5. Sadchikov A.P., Kulikov A.S. *Transformaciya prizhiznennogo vydelenogo fitoplanktonom organicheskogo veshchestva* // *Gidrobiol. zhurn.* – 1990. – V. 26, № 6. pp. 13-16.
6. Садчиков А.П., Козлов О.В. Продукция нано- и сетного фитопланктона в трех разных по трофности водоемах // Гидробиол. журн. – 1993. – Т. 29, № 1. С. 3-9.
6. Sadchikov A.P., Kozlov O.V. *Produkcija nanno- i setnogo fitoplanktona v trekh raznyh po trofnosti vodoemah* // *Gidrobiol. zhurn.* – 1993. – V. 29, № 1. pp. 3-9.
7. Садчиков А.П., Остроумов С.А. Формирование качества воды в пресноводной экосистеме и потребление низкомолекулярного органического вещества водорослями и бактериями // Рыбное хозяйство. – 2019. – № 2. С. 65-69.
7. Sadchikov A.P., Ostroumov S.A. *Formirovanie kachestva vody v presnovodnoj ekosisteme i potreblenie nizkomolekulyarnogo organicheskogo veshchestva vodoroslyami i bakteriyami* // *Rybnoe hozyajstvo.* – 2019. – № 2. pp. 65-69.
8. Бульон В.В. Внеклеточная продукция фитопланктона. – Успехи современной биологии, 1977, т. 84, № 5. С. 294-304.
8. Bul'on V.V. *Vnekletochnaya produkcija fitoplanktona.* – *Uspekhi sovremennoj biologii*, 1977, V. 84, № 5. pp. 294-304.
9. Садчиков А.П. Продукция и трансформация органического вещества размерными группами фито- и бактериопланктона: Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – М., МГУ, 1997. 53 с.
9. Sadchikov A.P. *Producirovanie i transformaciya organicheskogo veshchestva razmernymi gruppami fito- i bakterioplanktona: Avtoref. diss. ... dokt. biol. nauk.* – М., МГУ, 1997. 53 p.
10. Садчиков А.П., Макаров А.А. Прижизненное выделение органического вещества фитопланктоном в трех водоемах разной трофности (методические аспекты) // Гидробиол. журн. – 1997. – Т. 33, № 2. С. 104-108.
10. Sadchikov A.P., Makarov A.A. *Prizhiznennoe vydelenie organicheskogo veshchestva fitoplanktonom v trekh vodoemah raznoj trofnosti (metodicheskie aspekty)* // *Gidrobiol. zhurn.* – 1997. – T. 33, № 2. pp. 104-108.
10. Sadchikov A.P., Makarov A.A. *Prizhiznennoe vydelenie organicheskogo veshchestva fitoplanktonom v trekh vodoemah raznoj trofnosti (metodicheskie aspekty)* // *Gidrobiol. zhurn.* – 1997. – V. 33, № 2. pp. 104-108.
11. Садчиков А.П., Френкель О.А. Прижизненное выделение растворенного органического вещества фитопланктоном (методические аспекты). // Гидробиологический журнал, 1990, т. 26, № 1, с. 84-87.
11. Sadchikov A.P., Frenkel' O.A. *Prizhiznennoe vydelenie rastvorennogo organicheskogo veshchestva fitoplanktonom (metodicheskie aspekty).* // *Gidrobiologicheskij zhurnal*, 1990, V. 26, № 1, pp. 84-87.
11. Sadchikov A.P., Frenkel' O.A. *Prizhiznennoe vydelenie rastvorennogo organicheskogo veshchestva fitoplanktonom (metodicheskie aspekty).* // *Gidrobiologicheskij zhurnal*, 1990, V. 26, № 1, pp. 84-87.
12. Садчиков А.П., Френкель О.А. Сорбция меченых соединений мембранными фильтрами. // Информ. Булл. Биология внутренних вод АН СССР. 1990. № 89. С. 81-83.
12. Sadchikov A.P., Frenkel' O.A. *Sorbciya mechenyh soedinenij membrannymi fil'trami.* // *Inform. Byull. Biologiya vnutrennih vod AN SSSR.* 1990. № 89. pp. 81-83.
13. Cole J.J., Likens G.E., Hobbie J.E. Decomposition of planktonic algae in an oligotrophic lake. // 1984. Vol. 5, N 4. 257-266.
14. Садчиков А.П., Куликов А.С. Утилизация прижизненных и посмертных выделений *Chlorella vulgaris* бактериальным сообществом. // Биологические науки, 1992, № 7. С. 29-36.
14. Sadchikov A.P., Kulikov A.S. *Utilizaciya prizhiznennyh i posmertnyh vydelenij Chlorella vulgaris bakterial'nyh soobshchestvom.* // *Biologicheskie nauki*, 1992, № 7. pp. 29-36.
15. Садчиков А.П., Куликов А.С. Утилизация посмертных выделений фитопланктона бактериальным сообществом. // Гидробиол. журн., 1992, т. 28, № 5. С. 16-21.
15. Sadchikov A.P., Kulikov A.S. *Utilizaciya posmertnyh vydelenij fitoplanktona bakterial'nyh soobshchestvom.* // *Gidrobiol. zhurn.*, 1992, V. 28, № 5. pp. 16-21.
16. Садчиков А.П., Макаров А.А. Потребление и трансформация низкомолекулярного растворенного органического вещества фито- и бактериопланктоном в двух водоемах разной трофности // Водные ресурсы. – 2000. Том 27, № 1. С. 72-75.
16. Sadchikov A.P., Makarov A.A. *Potreblenie i transformaciya nizkomolekulyarnogo rastvorennogo organicheskogo veshchestva fito- i bakterioplanktonom v dveh vodoemah raznoj trofnosti* // *Vodnye resursy.* – 2000. Tom 27, № 1. С. 72-75.
17. Садчиков А.П., Макаров А.А., Максимов В.Н. Продукция размерных групп фитопланктона в трех водоемах разной трофности // Гидробиол. журн. 1995. Т. 31. № 6. С. 44-53.
17. Sadchikov A.P., Makarov A.A., Maksimov V.N. *Produkcija razmernyh grupp fitoplanktona v trekh vodoemah raznoj trofnosti* // *Gidrobiol. zhurn.* 1995. T. 31. № 6. С. 44-53.
17. Sadchikov A.P., Makarov A.A., Maksimov V.N. *Produkcija razmernyh grupp fitoplanktona v trekh vodoemah raznoj trofnosti* // *Gidrobiol. zhurn.* 1995. V. 31. № 6. pp. 44-53.
18. Енаки Г.А. О количественном составе органического вещества вод днепровских водохранилищ // Гидробиол. журн. – 1972. – Т. 8, № 1. С. 38-42.
18. Enaki G.A. *O kolichestvennom sostave organicheskogo veshchestva vod dneprovskih vodохранилищ* // *Gidrobiol. zhurn.* – 1972. – T. 8, № 1. С. 38-42.
18. Enaki G.A. *O kolichestvennom sostave organicheskogo veshchestva vod dneprovskih vodохранилищ* // *Gidrobiol. zhurn.* – 1972. – V. 8, № 1. pp. 38-42.
19. Кorableва А.И. Взаимосвязь компонентов РОВ и планктона в водоемах интенсивного комплексного использования // Водные ресурсы. – 1989. – № 2. С. 171-174.
19. Korableva A.I. *Vzaimosvyaz' komponentov ROV i planktona v vodoemah intensivnogo kompleksnogo ispol'zovaniya* // *Vodnye resursy.* – 1989. – № 2. pp. 171-174.
19. Korableva A.I. *Vzaimosvyaz' komponentov ROV i planktona v vodoemah intensivnogo kompleksnogo ispol'zovaniya* // *Vodnye resursy.* – 1989. – № 2. pp. 171-174.
20. Остроумов С.А. О биотическом самоочищении водных экосистем. Элементы теории. Доклады Академии наук. 2004. Т. 396. № 1. – С. 136-141. <https://www.researchgate.net/publication/265294672>
20. Ostroumov S.A. *O bioticheskom samoochishchenii vodnyh ekosistem. Elementy teorii. Doklady Akademii nauk.* 2004. T. 396. № 1. – С. 136-141. <https://www.researchgate.net/publication/265294672>
20. Ostroumov S.A. *O bioticheskom samoochishchenii vodnyh ekosistem. Elementy teorii. Doklady Akademii nauk.* 2004. V. 396. № 1. – pp. 136-141. <https://www.researchgate.net/publication/265294672>
21. Остроумов С.А. Гидробионты в самоочищении вод и биогенной миграции элементов. Москва, МАКС-Пресс. 2008, 200 с. <https://www.researchgate.net/publication/266200066>
21. Ostroumov S.A. *Gidrobionty v samoochishchenii vod i biogennoj migracii elementov.* Moskva, MAKS-Press. 2008, 200 p. <https://www.researchgate.net/publication/266200066>
21. Ostroumov S.A. *Gidrobionty v samoochishchenii vod i biogennoj migracii elementov.* Moskva, MAKS-Press. 2008, 200 p. <https://www.researchgate.net/publication/266200066>
22. Остроумов С.А. Качество и кондиционирование воды в природных экосистемах разработка теории биологических механизмов самоочищения воды // Экологическая химия 2017, 26(4); 175-182. <https://www.researchgate.net/publication/319955185>.
22. Ostroumov S.A. *Kachestvo i kondicionirovanie vody v prirodnyh ekosistemah razrabotka teorii biologicheskikh mekhanizmov samoochishcheniya vody* // *Ekologicheskaya himiya* 2017, 26(4); 175-182. <https://www.researchgate.net/publication/319955185>.
22. Ostroumov S.A. *Kachestvo i kondicionirovanie vody v prirodnyh ekosistemah razrabotka teorii biologicheskikh mekhanizmov samoochishcheniya vody* // *Ekologicheskaya himiya* 2017, 26(4); 175-182. <https://www.researchgate.net/publication/319955185>.
23. Остроумов С.А. On the biotic self-purification of aquatic ecosystems: elements of the theory. // Доклады Biological Sciences, 2004, Vol. 396, Numbers 1-6, pp. 206-211. <https://www.researchgate.net/publication/200567576>; <https://www.researchgate.net/publication/259579685>
24. Остроумов С.А., Biocontrol of water quality: Multifunctional role of biota in water self-purification // Russian Journal of General Chemistry, 2010, 80(13): p. 2754-2761; <https://www.researchgate.net/publication/227303635>
25. Остроумов С.А., Water quality and conditioning in natural ecosystems: biomachinery theory of self-purification of water. // Russian Journal of General Chemistry, 2017, Vol. 87, No. 13, pp. 3199-3204. <https://www.researchgate.net/publication/323122008>
26. Остроумов С.А., Садчиков А.П. Dynamics of the content of nitrogen, phosphorus, and carbon in the detrital particles suspended in water phase of ecosystems: consideration of water quality formation and exometabolism. // Russian Journal of General Chemistry, 2018. Vol. 88 (13), P. 2912-2917. <https://www.researchgate.net/publication/331099556>
27. Садчиков А.П., Остроумов С.А. Формирование качества воды в пресноводной экосистеме и потребление низкомолекулярного органического вещества водорослями и бактериями // Рыбное хозяйство. – 2019. – № 2. С. 65-69.
27. Sadchikov A.P., Ostroumov S.A. *Formirovanie kachestva vody v presnovodnoj ekosisteme i potreblenie nizkomolekulyarnogo organicheskogo veshchestva vodoroslyami i bakteriyami* // *Rybnoe hozyajstvo.* – 2019. – № 2. С. 65-69.
27. Sadchikov A.P., Ostroumov S.A. *Formirovanie kachestva vody v presnovodnoj ekosisteme i potreblenie nizkomolekulyarnogo organicheskogo veshchestva vodoroslyami i bakteriyami* // *Rybnoe hozyajstvo.* – 2019. – № 2. pp. 65-69.
28. Садчиков А.П., Остроумов С.А. Выявление и количественная оценка существенного вклада водорослей и бактерий в формирование качества воды и удаление растворенного органического вещества из воды эвтрофной экосистемы // Рыбное хозяйство. – 2019. № 5. С. 60-65.
28. Sadchikov A.P., Ostroumov S.A. *Vyyavlenie i kolichestvennaya ocenka sushchestvennogo vklada vodoroslej i bakterij v formirovanie kachestva vody i udalenie rastvorennogo organicheskogo veshchestva iz vody evtrofnoj ekosistemy* // *Rybnoe hozyajstvo.* – 2019. № 5. pp. 60-65.
28. Sadchikov A.P., Ostroumov S.A. *Vyyavlenie i kolichestvennaya ocenka sushchestvennogo vklada vodoroslej i bakterij v formirovanie kachestva vody i udalenie rastvorennogo organicheskogo veshchestva iz vody evtrofnoj ekosistemy* // *Rybnoe hozyajstvo.* – 2019. № 5. pp. 60-65.