
2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ПРИ ИЗУЧЕНИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО НАСЕЛЕНИЯ ДНЕПРА И ЕГО ВОДОХРАНИЛИЩ

Особенности функционирования бактериопланктона на разных этапах существования гигантских равнинных водохранилищ мы изучали на примере днепровского каскада. Это — верхнее в каскаде Киевское водохранилище ($S — 922 \text{ км}^2$, $V — 3,7 \text{ км}^3$), внутрикаскадное Кременчугское ($S — 2250 \text{ км}^2$, $V — 135 \text{ км}^3$) и замыкающее каскад Каховское водохранилище ($S — 2150 \text{ км}^2$, $V — 18,2 \text{ км}^3$), которые соответственно расположены в Полесье, Лесостепи и Степи.

Подробное описание морфометрии водохранилищ и их физико-географических особенностей дано в соответствующих разделах книги.

Основу настоящего сообщения составили материалы¹, полученные автором в результате систематических исследований Днепра и его водохранилищ в 1965—1991 гг. За этот период проведено 47 экспедиционных рейсов на отдельные участки Днепра и его водохранилищ; на Киевском и Кременчугском водохранилищах были выполнены стационарные исследования, в течение которых пробы отбирали соответственно еженедельно и раз в пятидневку в течение всего вегетационного периода.

¹ В сборе и обработке материала принимали участие Э.И.Коднер, Н.И.Сахарова и Л.И.Багнюк.

В связи с головным положением Киевского водохранилища в каскаде днепровских водохранилищ в 1967, 1971 и 1982 гг. Были проведены исследования по оценке баланса притока бактериопланктона за счет впадающих рек и сброса в нижний бьеф плотины Киевской ГРЭС. Для этого в указанные годы в течение 10 мес отбирали пробы в поступающих в Киевское водохранилище реках — Днепре, Припяти, Тетереве, а также в нижнем и верхнем бьефах самого водохранилища. В каждом из притоков отбирали ежемесячно по четыре пробы: две на середине (из поверхностного и придонного горизонтов) и по одной у правого и левого берегов (из поверхностного горизонта). В верхнем бьефе пробы отбирались из поверхностного и придонного горизонтов, в нижнем — из поверхностного.

Всего за 1965—1991 гг. были отобраны 2502 пробы воды и поставлено непосредственно в водохранилищах 308 натурных экспериментов по определению продукции и деструкции бактериопланктона и 52 — продукции бактерий — деструкторов белковых соединений.

Пробы воды отбирали на различных участках Днепра и его водохранилищах стерильным батометром Рутнера (на мелководных участках) и Молчанова (на глубоководье) в стерильные склянки емкостью 270 см³. Общую численность бактерий в воде определяли по методу Разумова (1931), на каждом фильтре просчитывали 20 полей зрения с помощью микроскопа МББ-1А при увеличении $\times 900$. Количество бактерий — деструкторов белковых соединений учитывали методом разливок на мясо-пептонный агар, численность бактерий, осуществляющих процессы круговорота азота, — методом титров. Для учета бактерий круговорота азота использовали жидкие среды: для нитрифицирующих бактерий — среду Виноградского, денитрифицирующих — среду Гильтая, аэробных (р. *Azotobacter*) и анаэробных (р. *Clostridium*) фиксаторов азота — среду Федорова и среду Виноградского (Родина, 1965; Кузнецов, Дубинина, 1989).

Расчет количества клеток бактерий на жидких средах в 1 мл воды производили по таблицам Мак-Креди (Селибер, 1962).

Количество бактерий группы кишечной палочки, которые являются показателями санитарного состояния водоема, определяли

методом фильтрации исследуемой пробы воды через бактериальный фильтр (Сынпор № 7, диаметр пор — 0,4 мкм) с последующим его проращиванием на среде Эндо (Родина, 1965).

При исследовании сестона и его компонентного состава в комплексе диатомовых и синезеленых водорослей для фильтрации проб воды и концентрирования сестона использовали мембранные фильтры № 5 с диаметром пор 1,2 мкм. В зависимости от концентрации водорослей обычно фильтровали от 2 до 1000 мл пробы.

Количество бактерий в воде устанавливали по разработанной нами методике (Михайленко, Куликова, 1973), суммируя их численность в фильтрате и в осадке на фильтре. Предполагалось, что на фильтре задерживаются в основном бактерии, прикрепленные к организмам планктона и частичкам детрита, а также свободнопарящие бактериальные клетки, соединенные в конгломераты. Поэтому для более точного учета таких бактерий необходимо было отделить их от субстрата и расчленить конгломераты. Этого достигали путем встряхивания осадка сестона в колбочках с определенным объемом ультрафиолетовой воды на шюттель-аппарате в течение 45 мин. Колонии синезеленых водорослей р. *Microcystis* при этом распадалась на отдельные клетки. После экспозиции на шюттель-аппарате полученную взвесь разводили в ультрафиолетовой воде, после чего 2 мл соответствующего разведения фильтровали через бактериальный мембранный фильтр № 2 (Мытищенская фабрика) с диаметром пор 0,4 мкм, и на нем после соответствующей обработки подсчитывали количество бактерий. Полученный результат пересчитывали на единицу массы сестона.

Всего в опытах по определению соотношения прикрепленных и свободнопарящих бактерий было проанализировано 70 проб по Киевскому и 322 пробы по Кременчугскому водохранилищам.

Идентификацию спорообразующих гетеротрофных бактерий, представителей р. *Bacillus*, проводили по определителям (Wolf, Barsger, 1968; Bergy, 1974).

Бактериальную продукцию (как бактериопланктона в целом, так и бактерий, минерализующих лабильные азотсодержащие соединения) определяли по приросту биомассы (количества) бактерий в изолированных пробах воды. При расчете использовали формулу

Д.З.Гак (1975): $P_t = BKt$, где P_t — продукция бактерий за время t ; B — средняя биомасса бактерий, которая определяется по начальной — B_0 и конечной — B_t биомассе бактерий за время t в нефилтрованных пробах воды; K — константа скорости роста; t — период времени, за который определяли бактериальную продукцию.

Выедание (G) рассчитывали по формуле Бойсен-Иенсена (Винберг, 1971): $P_t = B_t - B_0 + G$.

Интенсивность потребления кислорода бактериями определяли скляночным кислородным методом, описанным Г.Г.Винбергом (Экологическая система Нарочанских озер, 1985).

При отсутствии непосредственных экспериментальных данных по бактериальной деструкции использовали расчетные величины на основании данных по потреблению кислорода одной бактериальной клеткой для конкретного водохранилища с учетом температуры и концентрации бактерий в период исследования. Для оценки роли бактерий в деструкции органического вещества, осуществляемого планктонным сообществом, определяли общую деструкцию в нефилтрованных пробах воды.

Биомассу бактерий рассчитывали на основании их средних размеров, для чего определяли объем бактериальных клеток отдельно для представителей каждой морфологической группы — палочек, кокков, спор, а также азотобактероподобных клеток. Соответствующие расчеты делали для верхней, средней и нижней частей исследованных водохранилищ, после чего определяли средние показатели в целом для водохранилища.

Для расчета роли бактерий в потоке энергии через планктонное сообщество использовали схемы, предложенные Г.Г.Винбергом (1985). При расчете энергетической ценности принимали, что калорийность их сухой массы равна 5 ккал/г (Винберг, 1971).

Для расчета вероятной дозы поглощения бактериопланктоном в условиях действия радиационного фактора была использована методика, предложенная И.М.Белюсовой и Ю.М.Штуккенбергом (1961).

При статистической обработке выборки данных для определения среднего и среднего квадратичного отклонений пользовались формулами:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}, \sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

где $x_i, i = 1, 2, 3, \dots, n$ — элементы выборки, n — размер выборки, $\bar{x}$ — среднее, σ — квадратичное отклонение¹.

Для оценки достоверности различий двух выборок использовали метод проверки статистических гипотез. В качестве нулевой гипотезы принимали, что между средними выборками достоверного различия нет (и тогда они статистически неразличимы). При этом принимался определенный уровень значимости достоверности полученного результата. Подсчитывали нормированное отклонение:

$$t = \frac{d}{S_d},$$

где $d = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ — разница между средними арифметическими двух групп; S_d — средняя ошибка разницы.

Затем сравнивали полученные значения с табличной величиной распределения Стьюдента с заданным уровнем значимости и числом степеней свободы d_f , равным $n_1 + n_2 - 2$.

Среднюю ошибку разницы определяли по формуле:

$$S_d = \sqrt{\frac{n_1 + n_2}{n_1 n_2} \cdot \frac{(n_1 - 1)\sigma_1^2 + (n_2 - 1)\sigma_2^2}{n_1 + n_2 - 2}},$$

где σ_1, σ_2 — средние квадратичные отклонения отдельных выборок, n_1 и n_2 — размеры сопоставляемых выборок.

Для сравнения различий по «отклонению» данных относительно среднего двух выборок применяли критерий Фишера. Вычисленную величину $F_{n_1, n_2} = \frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2}$ сравнивали с табличным значением F со

¹ Консультативная помощь при математической обработке материалов нам любезно оказана к.б.н. А.Д.Андреевым, за что автор ему искренне признателен.

степенями свободы $n_1 - 1$ и $n_2 - 1$ при выбранном уровне значимости.

Расчеты выполнены на программируемом микрокалькуляторе МК-61.

В таблицах и тексте книги использованы следующие условные обозначения: n — количество отобранных проб; X — численность бактерий; B — биомасса бактерий; P — продукция; g — продолжительность генерации; G — выедание бактерий зоопланктоном; K — константа скорости роста; R — суммарная деструкция; R_1 — бактериальная деструкция; $K_2 = \frac{P}{P + D}$ (эффективность использования ассимилированной бактериями энергии на рост).