

УДК 574.5(28):285.3(579.26 + 574.152.3)

*В. М. Якушин, А. С. Потрохов, О. Г. Зиньковский,  
Г. М. Романишин, К. П. Калениченко, М. И. Линчук*

**ЧИСЛЕННОСТЬ БАКТЕРИЙ И ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ  
АКТИВНОСТЬ В ВОДЕ ОЗЕРА, РАСПОЛОЖЕННОГО  
В ГОРОДСКОЙ ЧЕРТЕ**

В озере Опечень-верхнее, расположенном в черте г. Киева, исследована сезонная динамика численности бактериопланктона и протеолитической активности в воде. Установлено, что на микробиологические показатели и ферментативную активность влияли физико-химические условия в водоеме и антропогенный пресс со стороны городской инфраструктуры. В летний и осенний сезоны обнаружена тесная положительная связь между численностью бактериопланктона и протеолитической активностью в воде, что свидетельствует о существенной роли бактериального населения в трансформации органических (белковых) веществ в водоеме.

*Ключевые слова:* оз. Опечень-верхнее, физико-химические условия, бактериопланктон, протеолитическая активность, иммуноферментный анализ.

Водоемы, расположенные в черте крупных промышленных центров, подвергаются антропогенному загрязнению, в состав которого входят различные органические соединения, биогенные вещества, ксенобиотики, что отражается на структурно-функциональных характеристиках сообществ гидробионтов и экологическом состоянии этих водных объектов.

Бактериальное население водоемов играет важную роль в трансформации и круговороте веществ, детоксикации ксенобиотиков и др. Известно, что в составе взвешенных и растворенных в воде органических веществ преобладают высокомолекулярные соединения [3]. Последние гидролизуются экзоферментами бактерий до простых соединений, после чего транспортируются в бактериальную клетку, что является важным механизмом в осуществлении круговорота веществ в водной экосистеме. Поэтому любые факторы водной среды (например, физико-химические условия или наличие токсичных примесей), влияющие на синтез и активность экзоферментов, могут влиять и на процесс круговорота веществ. В связи с этим, изучение ферментативной активности дает представление о функциональной активности бактериопланктона и его значении в трансформации органического вещества в водоеме.

© В. М. Якушин, А. С. Потрохов, О. Г. Зиньковский, Г. М. Романишин, К. П. Калениченко, М. И. Линчук, 2015

В черте г. Киева расположено более 400 водоемов, в той или иной мере испытывающих антропогенное воздействие [1]. Они являются неотъемлемым элементом окружающей среды города, выполняют важную эстетическую роль, а их состояние отражает экологическую обстановку в крупном промышленном центре. Изучению их гидробиологии уделялось большое внимание [1, 2, 11—13], однако в микробиологическом аспекте они исследованы крайне недостаточно [2, 9].

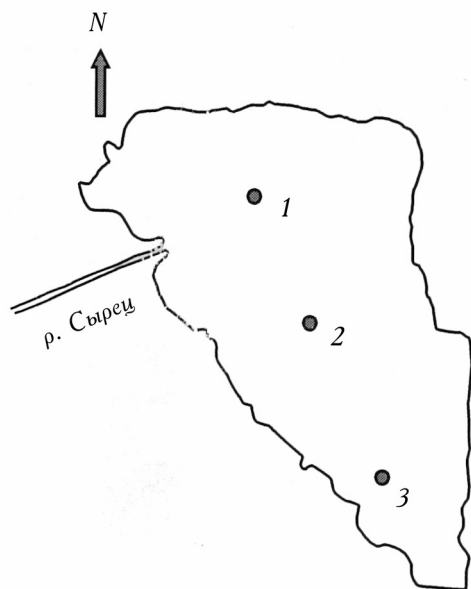
Целью нашей работы было установление сезонной динамики численности бактериопланктона и протеолитической активности в воде оз. Опечень-верхнее (г. Киев), а также степени сопряженности этих показателей в физико-химических условиях водоема.

**Материал и методика исследований.** Исследования были проведены на оз. Опечень-верхнее в апреле, августе и октябре 2013 г. Озеро расположено в Оболонском районе г. Киева и имеет следующие морфометрические характеристики: длина — 760 м, наибольшая ширина — 380 м, средняя глубина — 12 м, наибольшая — 15 м, площадь водного зеркала — 0,19 км<sup>2</sup>, объем — 2,28 млн. м<sup>3</sup> [1]. Водоем малопроточный, источниками его загрязнения является поверхностный сток, а также загрязненные бытовыми и промышленными стоками воды впадающей в него малой реки Сырец. Пробы воды для анализа отбирали из поверхностного (0,25 м) и придонного слоев на 3-х станциях, расположенных вдоль продольной оси озера (рис. 1).

Определяли гидрохимические показатели: концентрацию растворенного кислорода (йодометрическим методом Винклера), содержание неорганических соединений азота и фосфора (колориметрическим методом), количество органических веществ (ОВ)

(методом перманганатной (ПО) и бихроматной (БО) окисляемости) [10]. Общую численность бактерий учитывали методом эпифлуоресцентной микроскопии с использованием флуорохрома DAPI и черных поликарбонатных мембранных фильтров Millipore ( $d$  пор = 0,22 мкм) [15]. Препараты просматривали под эпифлуоресцентным микроскопом AxioImager A1 (Германия). Количество сапрофитных бактерий определяли на питательной среде РПА [8].

Протеолитическую активность в водной среде определяли с помощью иммуноферментного метода [7]: растворяли иммуноглобулин G (*Ig G*) в 0,05 М натрий-фосфатном буфере (рН 7,4) до концентрации 1 мг/мл, по 100 мкл полученного



1. Схема озера Опечень-верхнее: 1—3 — точки отбора проб.

раствора вносили в каждую лунку плоскодонного полистиролового 96-луночного планшета, закрывали крышкой и оставляли на ночь при 4°C. Три раза отмывали планшет 0,15 М натрий-фосфатным буферным раствором (pH 7,4), содержащим 0,05% твин-20, заливая по 100 мкл в каждую лунку, затем планшет осушали путем стряхивания остатка жидкости. В лунки планшета вносили по 100 мкл 0,05 М трис-HCl буферного раствора с pH 8,0. В одну из лунок планшета вносили 100 мкл раствора трипсина в том же буфере в концентрации 1 мкг/мл. Далее производили двукратные разведения трипсина, используя несколько следующих лунок. После инкубации в термостате в течение 1 ч при 37°C, трех отмывок 0,15 М натрий-фосфатным буферным раствором (pH 7,4), содержащим 0,05% твин-20, и осушения планшета в каждую лунку вносили по 100 мкл конъюгата пероксидазы с белком А золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*) в том же буфере в концентрации 5 мкг/мл. После инкубации в термостате в течение 1 ч при 37°C, трехкратной отмывки с детергентом и осушения планшета в каждую лунку вносили по 100 мкл субстратного раствора (0,038%-ный раствор о-фенилендиамина в 0,1 М натрий-цитратном буфере (pH 6,0), содержащий 0,06% перекиси водорода). После 30 мин инкубации в темноте при комнатной температуре реакцию останавливали внесением в каждую лунку 50 мкл 25%-ной серной кислоты. Светопоглощение определяли при 492 нм с помощью иммуноферментного анализатора (Rayto RT-2100 C) с вертикальным лучом. Калибровочную кривую строили по активности трипсина. В опыте вместо раствора фермента использовали воду (100 мкл) из водоема. В качестве условной единицы (у. е.) принята протеолитическая активность стандартного раствора трипсина.

Определение протеолитической активности проводили в природной воде из водоема, а также с целью уточнения роли бактерий в ферментативной активности в воде, профильтрованной через мембранные фильтры с диаметром пор 3 и 0,7 мкм.

### **Результаты исследований и их обсуждение**

В течение длительного времени (со второй декады апреля по октябрь) в оз. Опечень-верхнее отмечалась прямая вертикальная температурная стратификация водных масс, обусловившая стратификацию содержания растворенного кислорода и существенные различия в содержании химических ингредиентов в поверхностном и придонном слоях воды (табл. 1).

Содержание растворенного кислорода в дневное время в поверхностном слое воды на исследованных станциях колебалось в пределах 9,25—19,33 мг O<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>, достигая максимальных значений в августе (в период интенсивного развития фитопланктона) и минимальных — в октябре. В придонном слое в апреле отмечался дефицит кислорода, в августе кислород отсутствовал, в третьей декаде октября его концентрация составляла 7,62—8,90 мг O<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>.

Концентрация неорганических соединений азота и фосфора в поверхностном слое в апреле и октябре была высокой из-за антропогенного загрязнения водоема и процессов минерализации аллохтонных и автохтонных ОВ. В августе их содержание существенно снижалось вследствие ассимиляции

1. Физико-химические показатели воды оз. Опечень-верхнее

Показатели	Апрель	Август	Октябрь
Температура воды, °С	10,6	22,5	11,3
	1,9	9,1	9,9
O <sub>2</sub> , мг/дм <sup>3</sup>	11,55	18,80	10,12
	0,97	0,00	8,40
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , мг N/дм <sup>3</sup>	1,028	0,504	1,620
	3,129	4,650	2,068
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг N/дм <sup>3</sup>	1,248	0,025	0,816
	0,358	0,025	0,310
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , мг P/дм <sup>3</sup>	0,154	0,042	0,323
	0,557	0,700	1,062
ПО, мг O/дм <sup>3</sup>	8,66	11,80	9,92
	9,08	11,69	11,57
БО, мг O/дм <sup>3</sup>	36,65	29,09	27,44
	62,96	39,27	46,09

Примечание. Над чертой — поверхностный слой воды, под чертой — придонный (в среднем по станциям).

фитопланктоном. Концентрация аммонийного азота и фосфора фосфатов в придонном слое воды во все сезоны была существенно выше, чем в поверхностном. Содержание азота нитратов в придонной воде было незначительным. Летом, в анаэробных условиях, процессы нитрификации прекращались.

Сезонная динамика ПО в поверхностном и придонном слоях воды была сходной, максимальные значения отмечены в августе, т. е. в период интенсивного развития фитопланктона — в среднем соответственно 11,80 и 11,69 мг O/дм<sup>3</sup>. Наиболее высокие показатели БО в воде озера, особенно в придонном слое (в среднем 62,96 мг O/дм<sup>3</sup>), зарегистрированы в апреле, чему способствовало предшествующее увеличение водного стока с прилегающих территорий и водности р. Сырец в период весеннего половодья. Повышенное содержание неорганических форм азота и фосфора, а также ОВ является следствием антропогенного воздействия на водоем.

В сложившихся физико-химических условиях количественное развитие бактериопланктона было высоким во все сезоны. Общая численность бактерий в поверхностном и придонном слоях воды на исследованных станциях в течение периода исследований изменялась в сходных пределах — от 10,16 до 33,46 млн. кл/см<sup>3</sup> (табл. 2). Максимальное значение отмечено в августе, минимальное — в апреле. В апреле и октябре общее количество бактерий в поверхностном и придонном слоях было близким, в августе, в период интенсивного развития фитопланктона, в поверхностном слое оно было в среднем в 1,4 раза выше, чем в придонном. Сезонная динамика общей численности

## 2. Численность бактерий в воде оз. Опечень-верхнее

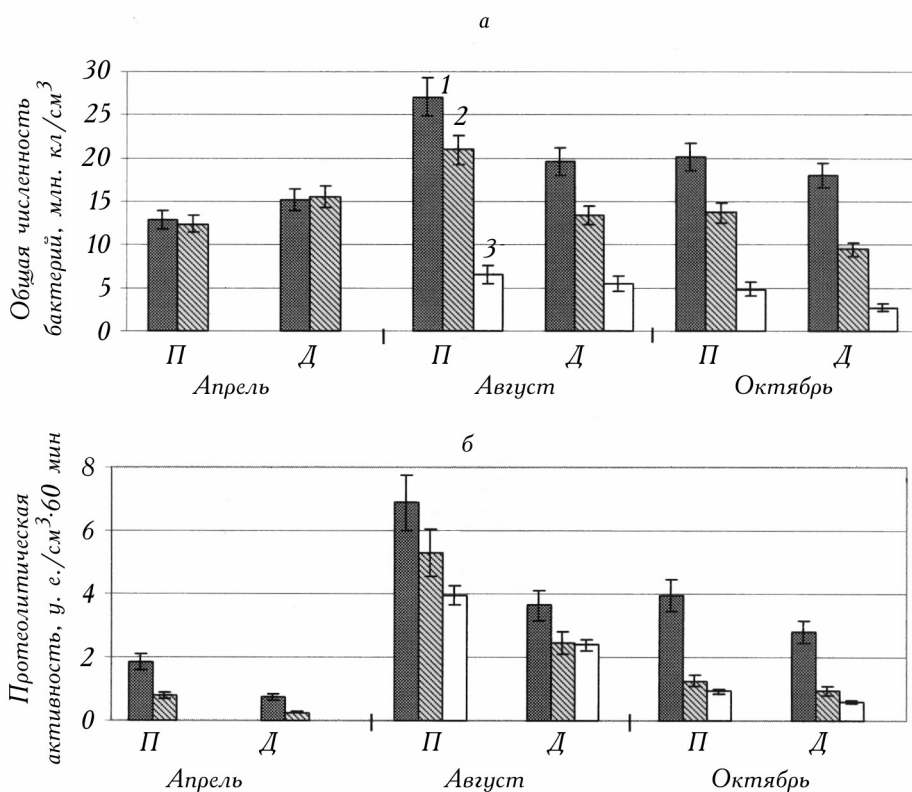
Показатели	Апрель	Август	Октябрь
Поверхностный слой воды			
ОЧБ, млн. кл/см <sup>3</sup>	10,16 – 15,23	20,12 – 33,46	13,96 – 28,04
	12,88 ± 2,56	27,05 ± 6,69	20,16 ± 7,19
СБ, тыс. кл/см <sup>3</sup>	2,42 – 3,90	6,74 – 18,22	2,95 – 4,51
	3,18 ± 0,74	11,39 ± 6,04	3,61 ± 0,81
Придонный слой воды			
ОЧБ, млн. кл/см <sup>3</sup>	10,54 – 18,53	13,09 – 31,65	10,94 – 23,62
	15,13 ± 4,13	19,58 ± 10,46	18,00 ± 6,46

Примечание. ОЧБ — общая численность бактерий, СБ — сапрофитные бактерии; над чертой — пределы колебаний, под чертой — в среднем.

бактерий в воде озера (как в поверхностном, так и в придонном слоях) была сопряжена с температурой воды и показателями ПО. Содержание сапрофитных бактерий в поверхностном слое за период исследований колебалось в широких пределах — от 2,42 до 18,22 тыс. кл/см<sup>3</sup> (см. табл. 2). Максимум их численности отмечался в августе, а сезонная динамика была аналогичной таковой общего количества бактерий. Пространственное распределение и численность планктонных бактерий по акватории и глубине озера в разные сезоны были неравномерными. Среди абиотических факторов, влияющих на них, следует отметить поступление в озеро загрязненных вод р. Сырец и рассеянных стоков, среди биотических — обилие и физиологическое состояние фитопланктона.

Одним из показателей, характеризующих активность функционирования бактериопланктона и его роль в круговороте веществ в водных экосистемах, является его ферментативная, в том числе протеолитическая активность [14]. В апреле на исследованных станциях протеолитическая активность в нефильтованной воде из поверхностного слоя составляла в среднем 1,86 у. е./см<sup>3</sup>·60 мин, а в воде, профильтрованной через фильтр с диаметром пор 3 мкм, — 44% общей активности (т. е., в природной воде). При этом общая численность бактерий в фильтрате уменьшалась незначительно (рис. 2). В нефильтованной воде придонного слоя протеолитическая активность составляла в среднем 0,76 у. е./см<sup>3</sup>·60 мин, после фильтрования она снижалась в среднем до 36% общей активности при неизменной общей численности бактерий.

Таким образом, в экологических условиях, сформировавшихся в озере в апреле, фильтрование проб воды из разных горизонтов не приводило к заметному изменению общего количества бактерий в фильтрате, в то же время протеолитическая активность в последнем снижалась в 2,3—2,6 раза. Можно предположить, что кроме бактериального населения существенным источником протеолитических ферментов являлись и другие организмы, которые задерживались на фильтрах. Протеолитическая активность в придонной воде (природной и фильтрате) была в среднем в 2,4—3,0 раза ниже, чем



2. Общая численность бактерий (а) и протеолитическая активность (б) в воде оз. Очень-верхнее: 1 — в природной воде, 2 и 3 — в воде, профильтрованной соответственно через фильтры с диаметром пор 3 и 0,7 мкм; П — поверхностный слой воды; Д — придонный слой воды.

в поверхностной. Очевидно, на синтез протеолитических ферментов и их активность в придонном слое негативно влияли низкая температура воды, дефицит кислорода, возможно, повышенная концентрация аммонийного азота [4] и обилие других гидробионтов.

В августе протеолитическая активность в природной воде из поверхностного слоя на исследованных станциях составляла в среднем 6,88 у. е./см<sup>3</sup>·60 мин, а после фильтрования через фильтры с диаметром пор 3 и 0,7 мкм снижалась в среднем соответственно до 77 и 57% общей. Следует отметить, что в фильтрате 3 мкм уменьшалась также и общая численность бактерий (см. рис. 2). В фильтрате 0,7 мкм общее количество бактерий снижалось на 76, а протеолитическая активность — лишь на 43% по сравнению с этими показателями в природной воде. При фильтровании природной воды задерживаются и не попадают в фильтраты организмы и взвеси, превышающие по размеру диаметр пор фильтров, однако поступают растворенные в воде (свободные) экзоферменты, не связанные с клеточной стенкой бактерий или взвешенными частицами [16]. Возможно, их количество в фильтрате, полученном при использовании фильтра с диаметром пор 0,7 мкм, несколько возрастает за счет разрушения некоторых представителей планктона в

процессе фильтрования. В природной воде из придонного слоя протеолитическая активность составляла в среднем  $3,63 \text{ у. е./см}^3 \cdot 60 \text{ мин}$ , а в воде, профильтрованной через 3 и 0,7 мкм, снижалась в среднем соответственно до 68 и 66% общей. При этом изменения общей численности бактерий и протеолитической активности в фильтрах придонной воды были сходными с этими показателями в фильтрах из поверхностного горизонта.

В августе, в отличие от апреля, при фильтровании проб воды из обоих горизонтов через фильтр 3 мкм общая численность бактерий в фильтрах заметно снижалась, поскольку значительная их часть находилась в агрегированном состоянии. Протеолитическая активность в природной воде из придонного слоя была в среднем в 2,0 раза, а в фильтрах, полученных с использованием фильтров с диаметром пор 3 и 0,7 мкм — в 2,1 и 1,7 раза ниже, чем в воде из поверхностного слоя, что свойственно и другим озерным экосистемам при наличии вертикальной температурной стратификации. В этих условиях ферментативная активность зависит от скорости осаждения детрита, образованного в верхнем слое озера [14], в нашем случае — интенсивного развития в эвфотическом слое фитопланктона, его частичного отмирания и осаждения на дно. Среди других факторов, обусловивших более низкую протеолитическую активность в придонной воде, следует отметить анаэробные условия, влияющие на состав организмов планктона, включая бактериальное население, а также, возможно, негативное влияние повышенной концентрации аммонийного азота на синтез протеолитических ферментов у бактерий [4, 5].

В октябре протеолитическая активность в природной воде из поверхностного слоя составляла в среднем  $3,96 \text{ у. е./см}^3 \cdot 60 \text{ мин}$ , а в профильтрованной через 3 и 0,7 мкм снижалась в среднем до соответственно 32 и 24% общей. В отличие от результатов, полученных в августе, после фильтрования воды через фильтр с диаметром пор 3 мкм, общее количество бактерий в фильтрате снижалось на 32%, а протеолитическая активность — на 68%. В фильтрате 0,7 мкм оба показателя уменьшались на 76%. Очевидно, в октябре активность функционирования бактериопланктона была ниже, чем в другие сезоны. В природной воде из придонного горизонта протеолитическая активность составляла в среднем  $2,79 \text{ у. е./см}^3 \cdot 60 \text{ мин}$ , а после фильтрования через фильтры с диаметром пор 3 и 0,7 мкм снижалась в среднем до 34 и 22% общей. Более низкая активность в фильтрах была сопряжена и с более низкой общей численностью бактерий в них. Протеолитическая активность в природной воде из придонного слоя была в среднем в 1,4 раза, а в фильтрах 3 и 0,7 мкм — в 1,3—1,6 раза ниже, чем из поверхностного. Снижение ферментативной активности в придонной воде, очевидно, обуславливалось тем же комплексом факторов, что и в другие сезоны.

Следует отметить, что общий пул протеолитических ферментов в водной среде формируется в результате жизнедеятельности разных организмов. Активными продуцентами протеолитических экзоферментов являются бактерии и грибы [5]. Отмечена тесная связь между численностью бактерий и протеолитической активностью в морских водах [16], что свидетельствует о важной роли бактериального населения в гидролизе белковых веществ. Обогащение воды ферментами, включая протеолитические, также происхо-



дит в результате разрушения организмов планктона, в том числе вирусного лизиса бактериальных клеток — явления, широко распространенного в различных морских и пресноводных экосистемах [6].

В оз. Опечень-верхнее, за исключением весеннего сезона (апрель), распределение протеолитической активности в природной воде, а также в фильтрах в значительной мере зависело от распределения общей численности бактерий. В августе коэффициент корреляции между численностью бактерий в природной воде из поверхностного слоя и ее фильтрах и протеолитической активностью составлял  $r = 0,43$  (при  $p = 0,25$ ), из придонного слоя —  $r = 0,60$  (при  $p = 0,09$ ); в октябре значения коэффициента составили соответственно  $r = 0,82$  ( $p = 0,007$ ) и  $r = 0,85$  ( $p = 0,004$ ). Полученные результаты свидетельствуют о существенной роли бактериального населения в трансформации белковых веществ в водной среде озера.

Протеолитическая активность в природной воде и в фильтрате 3 мкм из поверхностного и придонного слоев была минимальной в апреле, а максимальной — в августе, в соответствии с сезонными изменениями численности бактериопланктона и температуры воды. В условиях длительного периода стагнации в поверхностном и придонном слоях воды озера сформировались различные физико-химические условия, существенно влиявшие на протеолитическую активность. В среднем по водоему протеолитическая активность в природной придонной воде в исследуемые сезоны была в 1,4—2,4 раза, а в фильтрате 3 мкм — в 1,3—3 раза ниже, чем в таковых из поверхностного горизонта.

### *Заключение*

Результаты исследований, проведенных на оз. Опечень-верхнее, показали, что на численность бактерий и протеолитическую активность в озерной воде существенное влияние оказывали физико-химические условия в водоеме и антропогенное загрязнение со стороны городской инфраструктуры.

Кислородный режим озера имел признаки, свойственные димиктическим водоемам. Со второй декады апреля и до октября в озере отмечалась прямая вертикальная стратификация водных масс по температуре и концентрации растворенного кислорода, что существенным образом влияло на содержание химических ингредиентов в поверхностном и придонном слоях воды.

Во все сезоны в озере, особенно в придонном слое воды, содержание неорганических соединений азота, фосфора и ОВ было высоким, за исключением нитратов, концентрация которых в августе снижалась до минимальных значений: в поверхностном слое — в результате его ассимиляции фитопланктоном, в придонном — из-за прекращения процесса нитрификации в анаэробных условиях.

Общая численность бактерий в воде озера в период исследований изменялась в пределах 10,16—33,46 млн. кл./см<sup>3</sup>, достигая максимума в августе, в период интенсивного развития фитопланктона. В это же время численность бактериопланктона в поверхностном и придонном слоях воды заметно различалась: в первом она была в среднем в 1,4 раза выше. Содержание сапрофитных бактерий в



поверхностном слое воды в сезонном аспекте колебалось в широких пределах — 2,42—18,39 тыс. кл./см<sup>3</sup>, достигая наибольших значений в августе. Сезонная динамика численности бактериопланктона и сапрофитных бактерий соответствовала таковой температуры воды и содержания ОВ по показателю ПО.

Обогащение воды оз. Опечень-верхнее биогенными веществами и ОВ, а также высокие показатели численности планктонных бактерий являются следствием антропогенного загрязнения водоема и внутриводоемных процессов, присущих димиктическим озерам.

Протеолитическая активность в природной воде озера изменялась в широких пределах: в поверхностном слое воды — от 1,23 до 7,59, в придонном — от 0,23 до 5,78 у. е./см<sup>3</sup> 60 мин и соответствовала сезонной динамике общей численности бактерий. Снижение активности в придонном слое было обусловлено влиянием физико-химических условий, сохранявшихся на протяжении всего периода стагнации в водоеме.

Исследование проб воды, профильтрованных через фильтры с диаметром пор 3 и 0,7 мкм, показало, что большая часть протеолитической активности связана с агрегированным бактериопланктоном и другими взвешенными веществами. Между общей численностью бактерий и протеолитической активностью в природной воде и фильтрах в августе отмечена средняя ( $r = 0,43—0,60$ ), а в октябре — сильная положительная связь ( $r = 0,82—0,85$ ), что свидетельствует о существенной роли бактериопланктона в трансформации белковых веществ в водной среде оз. Опечень-верхнее.

\*\*

*В оз. Опечень-верхне, розташованому в межах м. Києва, досліджено сезонну динаміку чисельності бактеріопланктону та протеолітичної активності. Встановлено, що на мікробіологічні показники і ферментативну активність впливали фізико-хімічні умови у водоймі та антропогенне забруднення, спричинене інфраструктурою міста. У літній і осінній сезони спостерігався тісний позитивний зв'язок між чисельністю бактеріопланктону та протеолітичною активністю, що свідчить про суттєву роль бактеріального населення у трансформації органічних (білкових) речовин у водоймі.*

\*\*

*The paper deals with seasonal dynamics of planktonic bacteria population of the Lake Opечень-Verkhnie (the Upper Lake), located within the city of Kiev (Ukraine). The proteolytic activity in water of the lake and its seasonal changes were investigated by immune-enzyme analysis. Microbiological characteristics and enzymatic activity were influenced by the physical and chemical conditions and anthropogenic pressure from the urban infrastructure. Close positive correlation has been found between the number of bacteria and proteolytic activity in summer and autumn, indicating the essential role of bacterial populations in transformation of organic (protein) substances in the water body.*

\*\*

1. Афанасьев С.А. Характеристика гидробиологического состояния различных водоемов города Киева // Вестн. экологии. — 1996. — № 1—2. — С. 112—118.

2. *Афанасьев С.А., Колесник М.П., Давиденко Т.В. и др.* Санитарно-гидробиологическое состояние озер и заливов жилого массива Оболонь г. Киева // Гидробиологические проблемы внутренних водоемов Украины. — Киев: Наук. думка, 1991. — С. 98—109.
3. *Драбкова В.Г.* Зональное изменение интенсивности микробиологических процессов в озерах. — Л.: Наука, 1981. — 212 с.
4. *Кузнецов С.И., Саралов А.И., Назина Т.Н.* Микробиологические процессы круговорота углерода и азота в озерах. — М.: Наука, 1985. — 213 с.
5. *Мацелюх О.В., Левішко А.С., Варбанець Л.Д.* Протеолітичні ферменти мікроорганізмів // Мікробіол. журн. — 2010. — Т. 72, № 4. — С. 56—73.
6. *Олейник Г.Н., Юришинец В.И., Старосила Е.В.* Вирусы в водных экосистемах: распространение и экологическая роль (обзор) // Гидробиол. журн. — 2012. — Т. 48, № 3. — С. 73—81.
7. *Пат. 2373538 (РФ).* МПК G 01 N 33/53, N 33/573. Способ определения Ig G-протеазной активности / Ю. А. Тюрин, С. Н. Куликов, Р. С. Фассахов и др. — № 2008113407/13; Заявл. 28.09.08; Опубл. 20.11.09, Бюл. № 32. — 5 с.
8. *Родина А.Г.* Методы водной микробиологии. — М.: Наука, 1965. — 363 с.
9. *Романишин Г.М., Якушин В.М., Каленіченко К.П., Лінчук М.І.* Бактеріопланктон озера, розташованого в межах мегаполіса та його сезонні зміни // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біологія. — 2014. — № 1. — С. 25—31.
10. *Руководство по химическому анализу поверхностных вод суши /* Под ред. А. Д. Семенова. — Л.: Гидрометеиздат, 1977. — 542 с.
11. *Харченко Г.В., Шевченко Т.Ф., Клоченко П.Д.* Сравнительная характеристика фитоэпифитона водоемов г. Киева // Гидробиол. журн. — 2009. — Т. 45, № 3. — С. 15—23.
12. *Щербак В.И., Плигин Ю.В., Бойко Т.М. и др.* Санитарно-гидробиологическое состояние Корчеватских прудов в Киеве // Там же. — 1986. — Т. 22, № 6. — С. 94—96.
13. *Щербак В.И., Семенюк Н.Е.* Типизация водоемов урбанизированных территорий по разнообразию фитопланктона // Там же. — 2006. — Т. 42, № 5. — С. 3—18.
14. *Cunha A., Almeida A., Coelho F.J.R.C. et al.* Bacterial extracellular enzymatic activity in globally changing aquatic ecosystems // Microbiology Book Series. — 2010. — Vol. 2: Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology. — P. 124—135.
15. *Porter K.G., Feig Y.S.* The use of DAPI for identifying and counting of aquatic microflora // Limnol. Oceanogr. — 1980. — Vol. 25, N 5. — P. 943—948.
16. *Vives Rego J., Billen G., Fontigny A. et al.* Free and attached proteolytic activity in water environment // Mar. Ecol. Prog. Ser. — 1985. — Vol. 21. — P. 245—249.