

Wpłynęło 27.10.2016 r.
Zrecenzowano 20.12.2016 r.
Zaakceptowano 10.01.2017 r.
A – koncepcja
B – zestawienie danych
C – analizy statystyczne
D – interpretacja wyników
E – przygotowanie maszynopisu
F – przegląd literatury

OCENA STANU SANITARNO-BAKTERIOLOGICZNEGO ZBIORNIKA WODNEGO „BALATON” ZLOKALIZOWANEGO W CENTRUM BYDGOSZCZY

Łukasz KUBERA^{ABCDEF}, **Marta MAŁECKA-ADAMOWICZ**^{DEF}

Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy, Wydział Nauk Przyrodniczych, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Mikrobiologii

Streszczenie

Zbiorniki wodne coraz częściej stają się integralną infrastrukturą dużych miast, pełniąc ważne funkcje estetyczne i rekreacyjne. Nie są one jednak objęte systematycznym monitoringiem mikrobiologicznym. Celem niniejszej pracy była ocena stanu sanitarno-bakteriologicznego zbiornika wodnego „Balaton” położonego w centrum Bydgoszczy. Analizy sanitarne obejmujące liczebność wybranych grup mikroorganizmów wykonane zostały zgodnie ze standardami Polskich Norm. Dodatkowo badania poszerzono o oznaczenie ogólnej liczby bakterii (OLB) oraz ocenę aktywności błony cytoplazmatycznej komórek bakterioplanktonu, wykorzystując w tym celu zestaw barwników fluorescencyjnych LIVE/DEAD[®] BacLight[™] Bacterial Viability Kit. Wykonane badania wykazały, że zasadniczy wpływ na ilość drobnoustrojów miała pora roku. Największą liczbę bakterii psychrofilnych, mezofilnych oraz enterokoków kałowych odnotowano latem, a najmniejszą jesienią. Wyjątek stanowiły bakterie z grupy *coli* oraz *Escherichia coli*, których najmniejszą liczbę odnotowano w sezonie wiosennym. Podobne zależności stwierdzono na podstawie analizy ogólnej liczby komórek bakterii, wśród których aktywność błony cytoplazmatycznej wynosiła od 91,5% latem do 72,3% wiosną. Analiza taksonomicznego zróżnicowania dominujących szczepów bakterii wykonana metodą BIOLOG[®] wykazała, że wszystkie badane izolaty należały do klasy *Gammaproteobacteria*.

Słowa kluczowe: bakterioplankton, LIVE/DEAD, metoda BIOLOG[®], zbiorniki wodne

Do cytowania For citation: Kubera Ł., Małecka-Adamowicz M. 2017. Ocena stanu sanitarno-bakteriologicznego zbiornika wodnego „Balaton” zlokalizowanego w centrum Bydgoszczy. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. T. 17. Z. 1 (57) s. 63–73.

WSTĘP

W ostatnich latach zauważalnie rośnie tendencja do uwzględniania terenów zielonych w gospodarce przestrzennej aglomeracji miejskich. Wzrastająca świadomość i potrzeba społeczeństwa włączania w infrastrukturę miast terenów zieleni publicznej wyrażana jest między innymi poprzez projekty miejskich budżetów obywatelskich. Bardzo dużą część inicjatyw stanowią projekty dotyczące zagospodarowania lokalnej przestrzeni takimi inwestycjami, jak parki miejskie, parki rekreacyjno-sportowe, klomby czy ścieżki przyrodniczo-spacerowe. Ich integralną część stanowią często oczka i zbiorniki wodne, które pełnią zarówno funkcje estetyczne, jak i rekreacyjne. Takie śródmiejskie ekosystemy wodne mogą być zarybiane, służą do uprawiania sportów wodnych, a lokalnej ludności również niekiedy jako kąpieliska. Ponadto, zarówno naturalne jak i sztuczne, zbiorniki wodne zlokalizowane w miastach odgrywają ważną rolę ekologiczną, tworząc siedliska dla rzadkich gatunków roślin i zwierząt niespotykanych w innych biotopach. W konsekwencji zwiększenie różnorodności biologicznej pozytywnie wpływa na atrakcyjność turystyczną regionu [WAGNER 2005].

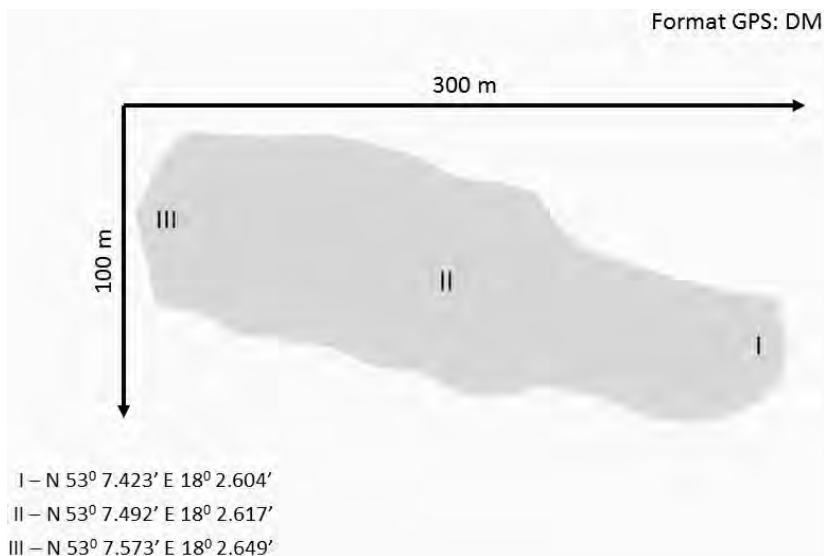
Zarówno ze względu na liczne funkcje, które zbiorniki wodne pełnią w środowisku miejskim, jak również na interakcje, do których dochodzi między człowiekiem a tymi ekosystemami, zbiorniki te powinny być obejmowane systematyczną kontrolą sanitarną. Niestety, w przypadku opisywanych bakteriocenoz nie jest prowadzony rutynowy monitoring bakteriologiczno-sanitarny. Dlatego celem niniejszej pracy była kompleksowa ocena stanu sanitarno-bakteriologicznego zbiornika wodnego „Balaton” zlokalizowanego w centrum Bydgoszczy.

MATERIAŁY I METODY BADAŃ

OBIEKT BADAŃ

Zbiornik wodny „Balaton”, zlokalizowany w dzielnicy „Bartodzieje” w centrum Bydgoszczy powstał jako staw poeksploatacyjny przy нефункционującej już cegielni [GORĄCZKO 2003]. Zbiornik o powierzchni 2,73 ha w latach 70 XX w. został przeznaczony do celów rekreacyjnych.

Próbki wody powierzchniowej z warstwy epilimnionu badanego zbiornika (objętość ok. 500 cm³) pobierane były czerpakiem do sterylnych słoików latem i jesienią 2014 r. oraz wiosną 2015 r. Na obszarze badań wytypowano trzy stanowiska badawcze (rys. 1).



Rys. 1. Lokalizacja stanowisk badawczych; źródło: opracowanie własne

Fig. 1. Location of the sampling sites; source: own elaboration

BADANIA MIKROBIOLOGICZNE

Pobrane próbki wody niezwłocznie dostarczano do laboratorium, gdzie poddawane były wybranym analizom. Ogólną liczbę heterotroficznych bakterii psychrofilnych (jtk 22°C) oraz mezofilnych (jtk 37°C) oznaczano zgodnie z rekomendacjami Polskiej Normy PN-EN ISO 8199:2010. Przed posiewem próbki rozcieńczano w jałowym peptonowym roztworze soli (0,85% wodny roztwór NaCl z dodatkiem 1 g peptonu na dm³). Przygotowane rozcieńczenia dobrze wymieszano na mikrowytrząsarce. Następnie wykonano z nich posiewy w trzech równoległych powtórzeniach w objętości 0,1 cm³ próbki na sterylną pożywkę testową agaru odżywczego. Po 24 godzinach inkubacji bakterii mezofilnych oraz odpowiednio 72 godzinach inkubacji bakterii psychrofilnych zliczano wyrosłe kolonie i podawano wynik jako jtk·cm⁻³.

Ogólną liczbę enterokoków kałowych oznaczono metodą filtracyjną zgodnie z PN-EN ISO 7899-2:2004 na podłożu Slanetz i Bartley w 37°C z potwierdzeniem na podłożu z azydkiem sodu i eskuliną w temperaturze 44°C. Bakterie z grupy *coli* oraz *Escherichia coli* oznaczono metodą filtracyjną zgodnie z PN-EN ISO 9308-1:2014-12 na podłożu ChromoCult[®] Coliform Agar w 37°C. Wyniki wyrażano w jtk·cm⁻³.

W celu oznaczenia ogólnej liczby komórek bakterioplanktonu oraz oceny ich stanu fizjologicznego poprzez integralność błony cytoplazmatycznej zastosowano metodę barwienia fluorescencyjnego, wykorzystując zestaw barwników

LIVE/DEAD® BacLight™ Bacterial Viability Kit. Próbkę rozcieńczono w stosunku 1:100 w sterylnej wodzie, którą wcześniej przesączono przez filtry celulozowe firmy Sartorius o średnicy porów 0,2 µm. Materiał dobrze wymieszano na mikrowytrząsarce i w objętości 1 cm³ przeniesiono do sterylnej probówki typu Eppendorf. Następnie do próbki dodano fluorochrom SYTO®9 oraz jodek propidyny (IP) w objętości 0,15 cm³ w stosunku 1:1. Probówkę delikatnie wstrząśnięto w celu wymieszania się barwników i pozostawiono na 20 minut w ciemności w temperaturze pokojowej. Po tym czasie próbkę filtrowano przez czarne filtry membranowe firmy Merck Millipore o średnicy porów 0,2 µm. Wykonane preparaty niezwłocznie oglądano pod mikroskopem epifluorescencyjnym (Nikon, model Eclipse E600), wyposażonego w zestaw filtrów B-2A (EX 450–490 nm, DM 505 nm, BA 520 nm). Ogólną liczbę bakterii (OLB) określano na podstawie wzoru:

$$X = \frac{SN}{sVR} \quad (1)$$

gdzie:

- X = liczba komórek bakterii w 1 cm³ wody;
- N = liczba komórek w analizowanym polu widzenia;
- S = efektywna powierzchnia filtra;
- s = analizowana powierzchnia pola widzenia;
- R = użyte rozcieńczenie próbki.

Zastosowana technika umożliwiła jednoczesne oznaczenie aktywności błony cytoplazmatycznej komórek bakterii. Na podstawie uzyskanych danych określono procent komórek bakterii z aktywną błoną komórkową [MEM+], które w wyniku barwienia fluorochromem SYTO®9 przyjmowały kolor zielony oraz komórek z uszkodzoną błoną komórkową [MEM-], które w wyniku barwienia znacznikiem IP przyjmowały kolor pomarańczowy.

ANALIZA TAKSONOMICZNA

Analizę taksonomicznego zróżnicowania dominujących szczepów bakterii wykonano metodą metabolicznego odcisku palca techniką BIOLOG®. W celu wykonania analizy badane szczepy posiano redukcyjnie na rekomendowaną przez producenta pożywkę agarową BUG. Po 18–24-godzinnej hodowli sterylną wymazówką przeniesiono pojedynczą kolonię do płynu inokulacyjnego IF-A, którego gęstość ustalono na poziomie 90–98% turbidancji. Tak przygotowaną zawiesinę bakteryjną zaszczepiono w objętości 0,1 cm³ dołki mikropłytek GEN III MicroPlate™ firmy Biolog. Płytki inkubowano przez 24 godziny w temperaturze +22°C. Po tym czasie wykonano odczyty z użyciem systemu MICROSTATION™ ID wspartego oprogramowaniem MicroLog 3.

ANALIZY STATYSTYCZNE

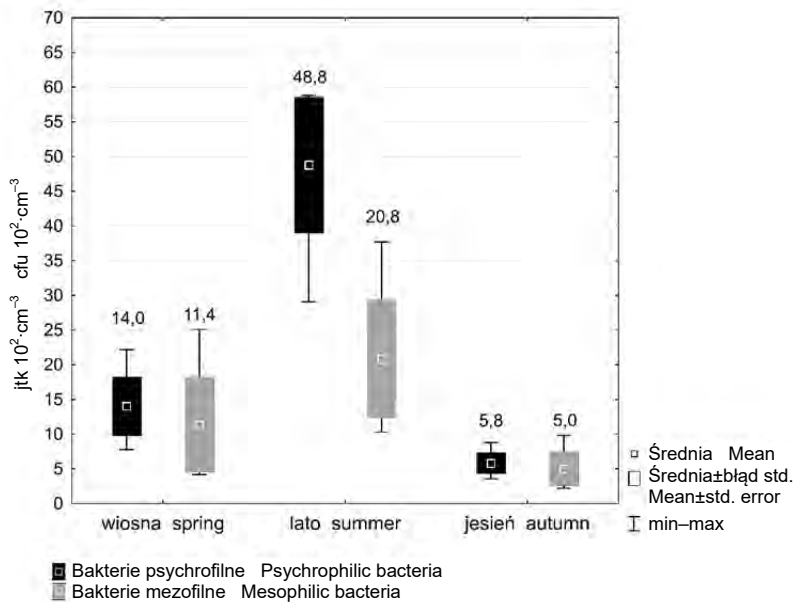
Analizę statystyczną wyników wykonano z zastosowaniem oprogramowania STATISTICA wer. 12. W celu analizy różnic pomiędzy grupami danych i porównywania niezależnych czynników wykorzystano analizę wariancji ANOVA lub test nieparametryczny ANOVA rang Kruskala–Wallisa. Przeprowadzono również test Tukeya z grupy testów post-hoc, umożliwiający określenie różnic wewnątrzgrupowych. Testy statystyczne prowadzono na poziomie istotności $p \leq 0,05$.

WYNIKI I DYSKUSJA

Zbiorniki wodne na skutek nieustannie wpływających na nie czynników fizykochemicznych i biologicznych są jednymi z najbardziej dynamicznie zmieniających się środowisk naturalnych. Dotyczy to zwłaszcza niewielkich ekosystemów, które dodatkowo mogą ulegać antropopresji, jak w przypadku zbiorników śródmiejskich.

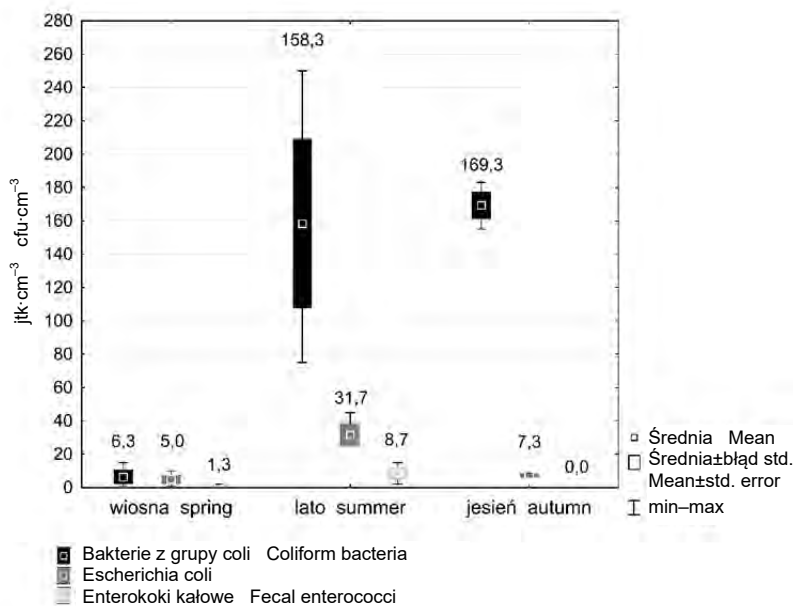
Jednym z podstawowych parametrów mikrobiologicznych charakteryzujących populację bakterii w środowiskach naturalnych jest jej liczebność. W środowiskach wodnych na jej wielkość znacząco wpływają czynniki panujące w poszczególnych porach roku [FRĄCZEK i in. 2015]. Jak wynika z przeprowadzonych analiz, największe wartości zarówno bakterii psychrofilnych, jak i mezofilnych odnotowano w sezonie letnim, najmniejsze natomiast w sezonie jesiennym (rys. 2). Uzyskane dane korespondują z wynikami badań KALWASIŃSKIEJ i DONDERSKIEGO [2005], którzy analizowali liczebność bakterii planktonowych i neustonowych w eutroficznym Jeziorze Chełmżyńskim. O dużej liczebności populacji bakterii w okresie letnim może świadczyć, charakterystyczny dla tego sezonu, intensywny rozwój fitoplanktonu stanowiącego ważne źródło pokarmu komórek bakterii. Wieloczynnikowa analiza wariancji nie wykazała innych istotnych różnic pomiędzy grupami danych. Jedyną różnicę wewnątrzgrupową za pomocą testów post-hoc wykazano właśnie między liczebnością bakterii w letnim sezonie a ich liczebnością w jesiennym sezonie badawczym ($p < 0,05$).

Bakterie wskaźnikowe są ważnym parametrem mikrobiologicznym umożliwiającym określenie sanitarnego stanu ekosystemów wodnych. Wśród nich szczególną rolę odgrywają bakterie fekalne, takie jak *Escherichia coli* czy *Streptococcus faecalis*, których obecność świadczy o występowaniu w wodzie świeżych ścieków bytowych. Największe wartości wszystkich analizowanych grup bakterii wskaźnikowych odnotowano w sezonie letnim (rys. 3). FRĄK i NESTOROWICZ [2009], monitorując stan sanitarny miejskich zbiorników na terenie Warszawy, również odnotowały znaczne pogorszenie się mikrobiologicznej jakości wód w okresie lata. Prawdopodobnie wynika to ze wzmożonej aktywności turystycznej, której sprzyja okres wakacyjny. Źródłem tak dużych ilości bakterii kałowych, stwierdzonych



Rys. 2. Liczebność bakterii heterotroficznych; źródło: wyniki własne

Fig. 2. Number of heterotrophic bacteria; source: own study

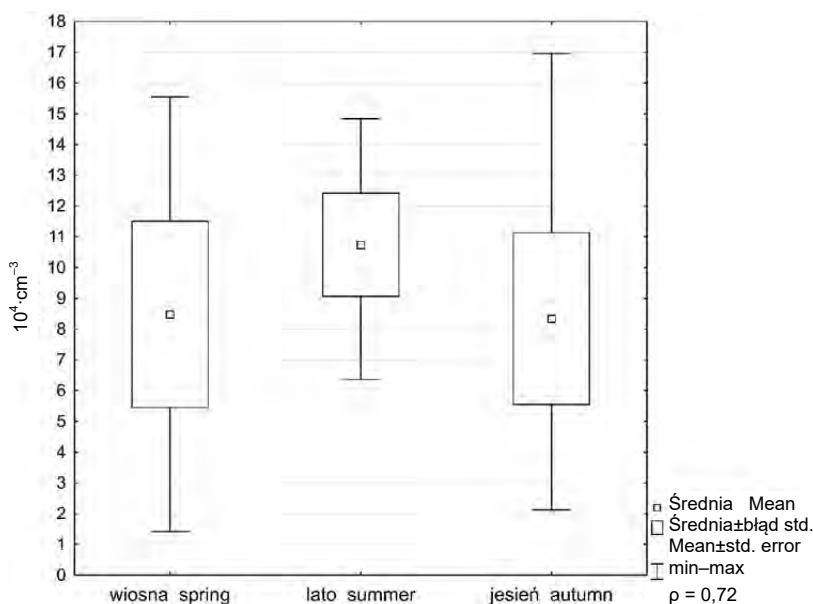


Rys. 3. Liczebność wskaźnikowych bakterii stanu sanitarnego; źródło: wyniki własne

Fig. 3. Number of indicator bacteria of sanitary condition; source: own study

w badanych próbkach wody, mogą być liczne gatunki ptaków, dla których w okresie wiosenno-letnim zbiornik wodny „Balaton” w Bydgoszczy staje się tymczasową ostoją, miejscem lęgu i żerowania. Analiza statystyczna z wykorzystaniem testu ANOVA rang Kruskala–Wallisa wykazała istotne różnice w liczebności bakterii wskaźnikowych pomiędzy sezonem letnim a wiosennym ($p < 0,05$). W obrębie grupy bakterii wskaźnikowych największe różnice odnotowano między bakteriami z grupy *coli* a enterokokami kałowymi ($p < 0,01$).

Jak wynika z przeprowadzonych badań, największe wartości ogólnej liczby bakterii odnotowano w sezonie letnim (rys. 4). Chociaż analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic pomiędzy ilością bakterioplanktonu w analizowanych sezonach, to uzyskane dane były średnio o dwa rzędy wielkości większe w stosunku do wyników liczebności uzyskanych tradycyjnymi metodami hodowlanymi. W literaturze wielokrotnie donoszono, że ogólna liczba komórek w siedliskach wodnych oznaczona metodami mikroskopowymi była o kilka rzędów wielkości większa niż liczba wyhodowanych kolonii, które obejmowały zaledwie od 0,001 do 0,3% ogólnej populacji [AMANN i in. 1995]. Niniejsze analizy wykazały, że w badanym obiekcie bakterie psychrofilne stanowiły średnio 2,7%, a bakterie mezofilne 1,5% ogólnej populacji bakterioplanktonu. Można to wytłumaczyć zdolnością bakterii do wchodzenia w specyficzny stan fizjologiczny, w którym pozostają one żywe, ale całkowicie tracą zdolność tworzenia kolonii na pożywkach mikrobiologicznych. Takie formy mikroorganizmów określono mianem VBNC (ang.

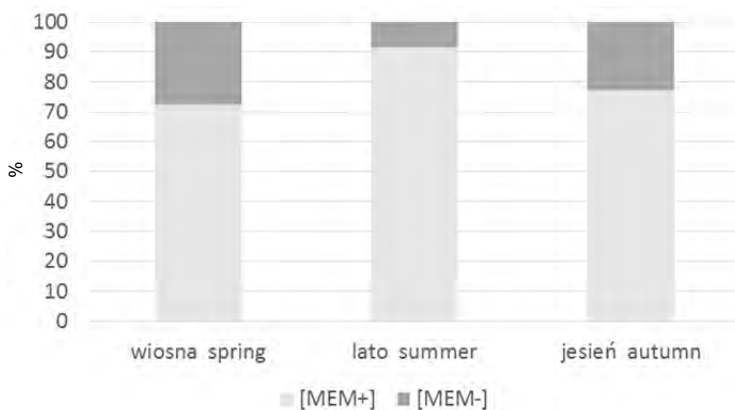


Rys. 4. Ogólna liczba komórek bakterii; źródło: wyniki własne

Fig. 4. Total number of bacterial cells; source: own study

viable but non culturable) [OLIVER 2010]. Obecnie panuje pogląd, że stan VBNC jest strategią przetrwania komórek bakteryjnych będącą odpowiedzią na trudne warunki środowiskowe [LLEÒ i in. 2007]. Jedną z istotnych cech komórek żywych, lecz nie powodujących wzrostu na podłożach mikrobiologicznych jest ich niska aktywność metaboliczna [OLIVER 2005]. Taką zdolność ma wiele patogenów [COLWELL 2000]. Z uwagi na cechy charakterystyczne dla komórek w stanie VBNC ich ilościowa i jakościowa ocena jest ważnym i uzasadnionym etapem badań nad strukturą mikrobiomu środowisk wodnych.

Jednym z ważnych wskaźników aktywności komórek bakterii jest ocena stanu ich błony cytoplazmatycznej [MIKŠ, WARMIŃSKA-RADYKO 2008]. Wyniki analiz przeprowadzonych w toku niniejszej pracy świadczą, że bakterie z nieuszkodzoną błoną komórkową stanowiły od 91,5% latem do 72,3% w okresie wiosennym (rys. 5). Wyniki dostępnych prac badawczych wskazują na jeszcze rzadsze występowanie żywych komórek w populacjach bakterii środowisk wodnych [FREESE i in. 2006; HAGLUND i in. 2003]. Najwięcej komórek z nieaktywną błoną komórkową, tj. 27,9%, stwierdzono w sezonie jesiennym, co mogło być spowodowane wzmożoną aktywnością w tym okresie bakteriożernych nanowiciowców [KOTON-CZARNECKA, CHRÓST 2003].



Rys. 5. Udział (%) żywych (MEM+) i martwych (MEM-) komórek bakteryjnych;
źródło: wyniki własne

Fig. 5. The percentage (%) of live (MEM+) and dead (MEM-) bacterial cells;
source: own study

Strukturę wykonanej analizy taksonomicznej przedstawiono w tabeli 1. Na podstawie identyfikacji wyizolowanych szczepów ($n = 14$) można stwierdzić, że w badanej wodzie dominowały bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* reprezentowane przez *Escherichia coli*, *Serratia plymuthica*, *Serratia fonticola* oraz *Leclercia adecarboxylata*. Wykazano również obecność bakterii z rodziny *Aeromonadaceae*,

tj. *Aeromonas bestiarum* oraz *Aeromonas sobria*, a także *Acinetobacter baumannii* należące do rodziny *Moraxellaceae*. Wszystkie wymienione gatunki należą do typu *Proteobacteria*, który obejmuje wyłącznie bakterie Gram-ujemne. Klasa *Gammaproteobacteria*, obejmująca przede wszystkim liczną grupę bakterii należących do rodziny pałeczek jelitowych, jest dominującym taksonem w środowiskach wodnych. Fakt ten potwierdzony został wieloma analizami, przeprowadzonymi w różnych częściach świata, zarówno w jeziorach słodkowodnych [LEON i in. 2012; ZWART i in. 2002], jak i słonowodnych [JAMIESON i in. 2013; STOLLE i in. 2011].

Tabela 1. Taksonomiczne zróżnicowanie dominujących szczepów

Table 1. Taxonomic diversity of dominant strains

Typ <i>Phyllum</i>	Klasa <i>Class</i>	Rząd <i>Order</i>	Rodzina <i>Family</i>	Rodzaj/Gatunek <i>Genus/Species</i>
<i>Proteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia coli</i>
				<i>Serratia plymuthica</i>
				<i>Serratia fonticola</i>
				<i>Leclercia adecarboxylata</i>
		<i>Aeromonadales</i>	<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sobria</i>
		<i>Pseudomonadales</i>	<i>Moraxellaceae</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

PODSUMOWANIE

Wyniki przeprowadzonych analiz świadczą, że na ogólną liczebność bakterii heterotroficznych, w tym bakterii wskaźnikowych, duży wpływ wywierała pora roku. Największe ilości bakterioplanktonu, oznaczanego zarówno metodami hodowlanymi, jak i bezpośrednimi stwierdzono w okresie letnim, kiedy panowała wysoka temperatura i wzmożona aktywność rekreacyjna wokół badanego zbiornika wodnego. Badania cytologiczne wykazały ponadto, że bakterie oznaczane klasycznymi metodami hodowlanymi stanowiły jedynie niewielką część faktycznej liczebności bakterii wodnych. Analiza taksonomiczna wybranych szczepów bakterii potwierdziła występowanie typowo wodnych bakterii Gram-ujemnych należących do typu *Proteobacteria*, który reprezentowany był głównie przez gatunki należące do rodziny pałeczek jelitowych. Powyższe wyniki sugerują konieczność objęcia zbiorników wodnych pełniących w miastach funkcje rekreacyjne przynajmniej okresową kontrolą sanitarną, co pozwoli ograniczyć potencjalne ryzyko epidemiologiczne.

Praca została sfinansowana ze środków budżetowych na naukę.

BIBLIOGRAFIA

- AMANN R.I., WOLFGANG L., SCHLEIFER K.H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*. Vol. 59. No. 1 s. 143–169.
- COLWELL R.R. 2000. Viable but nonculturable bacteria: A survival strategy. *Journal of Infection and Chemotherapy*. Vol. 6. Iss. 2 s. 121–125.
- FRAŃCZEK K., GRZYB J., CHMIEL M.J. 2015. Ocena zagrożenia bakteriologicznego w wodach powierzchniowych w rejonie eksploatowanego składowiska odpadów komunalnych [The evaluation of bacteriological hazard in surface waters near the operating municipal landfill site]. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*. T. 15. Z. 1(49) s. 37–45.
- FRAŃK M., NESTOROWICZ A. 2009. Ocena stanu sanitarnego wybranych zbiorników wodnych parków miejskich Warszawy [Sanitary assessment of selected water reservoir's in Warsaw parks]. *Przeгляд Naukowy Inżynieria i Kształtowanie Środowiska*. Nr 44 s. 3–10.
- FREESE H.M., KARSTEN U., SCHUMANN R. 2006. Bacterial abundance, activity, and viability in the eutrophic River Warnow, northeast Germany. *Microbial Ecology*. Vol. 51. Iss. 1 s. 117–127.
- GORĄCZKO M. 2004. Zbiorniki wodne na obszarze Bydgoszczy w ujęciu historycznym [Water reservoirs on the Bydgoszcz area in the historical approach]. *Kronika Bydgoska*. Nr 25 s. 13–36.
- HAGLUND A.L., LANTZ P., TÖRNBLÖM E., TRANVIK L. 2003. Depth distribution of active bacteria and bacterial activity in lake sediment. *FEMS Microbiology Ecology*. Vol. 46. Iss. 1 s. 31–38.
- JAMIESON R.E., HEYWOOD J.L., ROGERS A.D., BILLETT D.S.M., PEARCE D.A. 2013. Bacterial biodiversity in deep-sea sediments from two regions of contrasting surface water productivity near the Crozet Islands, Southern Ocean. *Deep Sea Research. Part I: Oceanographic Research Papers*. Vol. 75 s. 67–77.
- KALWASIŃSKA A., DONDESKI W. 2005. Neustonic versus planktonic bacteria in eutrophic lake. *Polish Journal of Ecology*. Vol. 53. No. 4 s. 571–577.
- KOTON-CZARNECKA M., CHRÓST R.J. 2003. Protozoans prefer large and metabolically active bacteria. *Polish Journal of Environmental Study*. Vol. 12. No. 3 s. 325–334.
- LEON C., CAMPOS V., URRUTIA R., MONDACA M.A. 2012. Metabolic and molecular characterization of bacterial community associated to Patagonian Chilean oligotrophic-lakes of quaternary glacial origin. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 28. Iss. 4 s. 1511–1521.
- LLEÓ M.M., BENEDETTI D., TAFI M.C., SIGNORETTO C., CANEPARI P. 2007. Inhibition of the resuscitation from the viable but non-culturable state in *Enterococcus faecalis*. *Environmental Microbiology*. Vol. 9. Iss. 9 s. 2313–2320.
- MIKŠ M.H., WARMIŃSKA-RADYKO I. 2008. Wybrane techniki fluorescencyjne w badaniach stanu fizjologicznego i przeżywania komórek bakteryjnych w żywności [Selected fluorescent techniques in the research of the physiological state and viability of bacteria cells in food]. *Medycyna Weterynaryjna*. Nr 64(5) s. 623–627.
- OLIVER J.D. 2005. The viable but nonculturable state in bacteria. *Journal of Microbiology*. Vol. 43. Iss. 1 s. 93–100.
- OLIVER J.D. 2010. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*. Vol. 34. Iss. 4 s. 415–425.
- PN-EN ISO 7899-2:2004. Jakość wody – Wykrywanie i oznaczanie ilościowe enterokoków kałowych. Cz. 2: Metoda filtracji membranowej [Water quality – Detection and enumeration of intestinal enterococci. P. 2: Membrane filtration method].
- PN-EN ISO 8199:2010. Jakość wody – Ogólne wytyczne oznaczania liczby bakterii metodą hodowli [Water quality – General guidance on the enumeration of micro-organisms by culture].
- PN-EN ISO 9308-1:2014-12. Jakość wody – Oznaczanie ilościowe *Escherichia coli* i bakterii grupy coli. Cz. 1: Metoda filtracji membranowej do badania wód o małej ilości mikroflory towarzyszą-

- cej [Water quality – Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria. P. 1: Membrane filtration method for waters with low bacterial background flora].
- STOLLE C., LABRENZ M., MEESKE C., JÜRGENS K. 2011. Bacterioneuston community structure in the southern Baltic Sea and its dependence on meteorological conditions. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 77. Iss. 11 s. 3726–3733.
- WAGNER A. 2005. Znaczenie zbiorników wodnych w rozwoju ekoturystyki i agroturystyki w wybranych rejonach wiejskich w okolicach Krakowa [The role of water bodies in the development of eco-tourism and agro-tourism in the selected rural regions near Cracow]. *Przegląd Naukowy Inżynieria i Kształtowanie Środowiska*. Nr 2(32) s. 140–146.
- ZWART G., CRUMP B.C., VAN AGTERVELD M.P.K., HAGEN F., HAN S.K. 2002. Typical freshwater bacteria: An analysis of available 16S rRNA gene sequences from plankton of lakes and rivers. *Aquatic Microbial Ecology*. Vol. 28. Iss. 2 s. 141–155.

Lukasz KUBERA, Marta MAŁECKA-ADAMOWICZ

EVALUATION OF SANITARY AND BACTERIOLOGICAL CONDITION OF THE “BALATON” WATER RESERVOIR LOCATED IN THE CENTER OF BYDOSZCZ

Key words: bacterioplankton, BIOLOG® method, LIVE/DEAD, water reservoirs

S u m m a r y

Water reservoirs have become increasingly an integral part of infrastructure of big cities. They play an important aesthetic and recreational functions, but aren't covered by systematic microbiological monitoring. The aim of this study was evaluation of sanitary and bacteriological condition of the “Balaton” water reservoir located in Bydgoszcz. Sanitary analysis includes the number of selected groups of microorganisms were made in accordance with the Polish Standards recommendations. The study was expanded to determine the total number of bacteria (TNB) and assessment the activity of cytoplasmic membrane of bacterioplankton. In this case was used fluorescent dyes LIVE/DEAD® BacLight™ Bacterial Viability Kit. The studies showed, that the season has a major impact on the distribution of bacterial populations. The highest average number of psychrophilic and mesophilic bacteria and also fecal enterococci was recorded in summer. The exceptions were coliform bacteria and *Escherichia coli*, which the smallest average number was noted in spring. Similar relationship observed based on the total number bacteria, among which cytoplasmic membrane activity varied from 91.5% in summer to 72.3% in autumn. The taxonomic analysis of dominant bacterial strains prepared using BIOLOG® method showed, that all examined isolates belonged to *Gammaproteobacteria* class.

Adres do korespondencji: dr Łukasz Kubera, Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy, Wydział Nauk Przyrodniczych, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Mikrobiologii, al. Powstańców Wielkopolskich 10, 85-090 Bydgoszcz; tel. + 48 52 376-79-25, e-mail: kubera@ukw.edu.pl