

ГІДРОБІОЛОГІЯ

УДК 579.26:579.84/.86

Н. Р. ДЕМЧЕНКО

Чернігівський національний педагогічний університет імені Т. Г. Шевченка
вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів, 14013

РОЗВИТОК БАКТЕРІОЦЕНОЗУ КОРОПА ДЗЕРКАЛЬНОГО (*CYPRINUS SPECULARIS*) ПІД ВПЛИВОМ ПОЛЮТАНТІВ

Досліджено склад бактеріального ценозу поверхні шкіри та зябер *Cyprinus specularis*. Виділені ізоляти бактерій за морфолого-культуральними та фізіолого-біохімічними ознаками віднесено до родів *Micrococcus* і *Pseudomonas*. Показано, що мікрофлора риб реагує на зміни середовища антропогенного характеру.

Ключові слова: бактерії родів *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Cyprinus specularis*, синтетичний миючий засіб «Тайд», гербіцид «Зенкор»

Чутливим біоіндикатором стану водного середовища є мікроорганізми, яким належить головна роль в самоочищенні природних екосистем. Асоційована мікрофлора присутня в різних органах і тканинах, на поверхні шкіри та зябрах корошових риб, а її кількісні та якісні характеристики часто відображають характерні особливості оточуючого середовища [3, 11]. Останнім часом інтерес дослідників щодо формування мікробіоценозу на поверхні шкіри та зябер риб зростає [1, 2, 3, 7, 10, 11]. Завдяки цим роботам підтвердилась думка про те, що мікрофлора поверхні тіла та зябер є обов'язковим компонентом, який залежить від багатьох факторів, включно від умов місця існування риб.

Нині мало дослідженим є питання кількісного та якісного складу мікробного угруповання поверхні тіла та зябер *Cyprinus specularis* і впливу на нього полютантів.

Метою роботи було дослідження кількісного та якісного складу мікробного ценозу поверхні тіла та зябер *Cyprinus specularis* і впливу на його розвиток синтетичного миючого засобу «Тайд» та гербіциду «Зенкор».

Матеріал і методи досліджень

Досліди з вивчення впливу синтетичного миючого засобу «Тайд» та гербіциду «Зенкор» на розвиток мікробного ценозу поверхні тіла та зябер риби проводили в лабораторних умовах на коропах (*Cyprinus specularis*) дволітках. Під час експерименту риб утримували в 250-літрових акваріумах із відстояною водопровідною водою, в які рибу розміщували з розрахунку 1 екземпляр на 40 л води. Дослідження проводили в осінньо-зимовий період впродовж 14 діб при температурі води $8 \pm 2^\circ\text{C}$, рН $7,80 \pm 0,28$; вміст у воді O_2 становив $5,8 \pm 0,5$ мг/дм³. Заміну води проводили кожні 3 доби, в усіх випадках здійснювали контроль і підтримували постійну аерацію та температуру води, яка була близькою до природної. Для моделювання забруднення у воду вносили синтетичний миючий засіб «Тайд» та гербіцид «Зенкор» у концентрації, що відповідала двом гранично допустимим [6]. Контролем були мікроорганізми поверхні тіла та зябер риб, що перебували у воді акваріумів без додавання забруднювачів.

Відбір проб для дослідження здійснювали зі шкіри та зябер *Cyprinus specularis* за загальноприйнятими методиками [2]. Виявлення та виділення компонентів мікробного ценозу

поверхні шкіри та зябер *Cyprinus specularis* проводили методом висіву із розведень клітинної суспензії на щільне середовище – м'ясопептонний агар (МПА) [8]. Для одержання чистих культур бактерій здійснювали багаторазові пересіви окремих колоній на м'ясопептонному бульйоні (МПБ) та щільному середовищі МПА. Очищення культури супроводжували мікроскопічним контролем [9].

Для вивчення морфології виділених бактерій готували препарат «роздавлена крапля» та фіксований препарат клітин, який забарвлювали фуксином. Морфотип бактерій досліджували за допомогою оптичного мікроскопу ($\times 100$) Delta Optical Genetic Pro Polska. Препарати клітин бактерій забарвлювали за Грамом для визначення грамнегативних (G^-) та грампозитивних (G^+) бактерій. Вивчення фізіолого-біохімічних властивостей бактерій проводили за методами, описаними в [9].

При обробці одержаних даних використано методи математичної статистики [5]. Статистичне опрацювання результатів експерименту проведено для рівня значущості $p \leq 0,05$ з врахуванням нормального t -розподілення, повторність трикратна. Відносна похибка представлених даних не перевищує 10%.

Результати досліджень та їх обговорення

Дані мікробіологічного дослідження поверхні шкіри та зябер *Cyprinus specularis* засвідчують наявність в угрупованні мікроорганізмів бактерій та мікроскопічних грибів. Дослідження виділених бактерій за морфолого-культуральними характеристиками дали такі результати: на МПА утворювали поверхневі блискучі колонії білого та жовтого кольору, округлі з рівним краєм, випуклим профілем, однорідної структури та слизовою консистенцією, на МПБ утворювали аморфний осад та каламуть. Діаметр колоній при інкубуванні за температури 27°C – 30°C через 48 год. сягав 3-4 мм (колонії білого кольору) та 2-3 мм (колонії жовтого кольору).

Із морфологічно різних колоній нами виділено чисті культури бактерій: штам 1 (із колоній жовтого кольору) та штам 2 (із колоній білого кольору). Виділені штами відрізнялись за морфолого-культуральними ознаками. При оптичній мікроскопії встановлено, що клітини штаму 1 грамнегативні короткі палички з заокругленими кінцями, поодинокі, рухливі. Клітини штаму 2 грампозитивні, сферичної форми, поодинокі та в парах, а також утворювали неправильні скупчення, нерухливі.

Встановлено, що бактерії штаму 1 та штаму 2 відрізнялися за деякими фізіолого-біохімічними властивостями. Бактерії штаму 1 та штаму 2 є аеробами, проявляють протеолітичну та каталазну активність не утворюють індол та аміак, не утворюють орнітиндекарбоксілазу та лізиндекарбоксілазу. Бактерії штаму 1 на відміну від бактерій штаму 2 проявляють оксидазну активність, продукують сірководень, ферментують сахарозу та розщеплюють аргінін, продукуючи аргініндегідролазу. Для бактерій штаму 2 характерний процес окиснення глюкози.

Отже, за морфолого-культуральними та фізіолого-біохімічними ознаками бактерії штаму 1 та штаму 2 згідно з [8] можна віднести до родів *Pseudomonas* і *Micrococcus* відповідно.

Результати дослідження впливу синтетичного миючого засобу «Тайд» та гербіциду «Зенкор» на бактерії поверхні тіла та зябер коропа дзеркального наведено на рис. 1. В мікробному ценозі поверхні шкіри та зябер у контролі переважають бактерії роду *Micrococcus*: їх чисельність відповідно в 2,4 та в 1,4 рази більша порівняно з чисельністю бактерій роду *Pseudomonas*. Одержані результати свідчать про токсичний вплив «Тайду» та «Зенкору» на бактерії роду *Micrococcus*, які знаходяться на поверхні тіла *Cyprinus specularis*. При цьому більш токсичний вплив має гербіцид «Зенкор»: кількість бактерій знижується в 2,3 рази. Розвиток бактерій *Pseudomonas* sp. при внесенні в воду «Тайду» стимулюється: кількість бактерій зростає в 1,9 разів порівняно з контролем. Внесення в воду гербіциду «Зенкор» дещо пригнічує розвиток бактерій *Pseudomonas* sp. – їх кількість зменшується в 1,3 рази порівняно з контролем. Проведені дослідження показали, що розвиток бактерій родів *Micrococcus* та *Pseudomonas* на зябрах за дії синтетичного миючого засобу «Тайд» та гербіциду «Зенкор» значно відрізняється. В мікробному ценозі зябер переважають бактерії роду *Pseudomonas*. Їх чисельність збільшується в 3,4 рази як за дії «Тайду» так і «Зенкору» порівняно з контролем.

Чисельність бактерій *Micrococcus* sp. за дії «Тайду» дещо збільшується (в 1,2 рази), а за дії «Зенкору» зменшується (в 1,2 рази) порівняно з контролем.

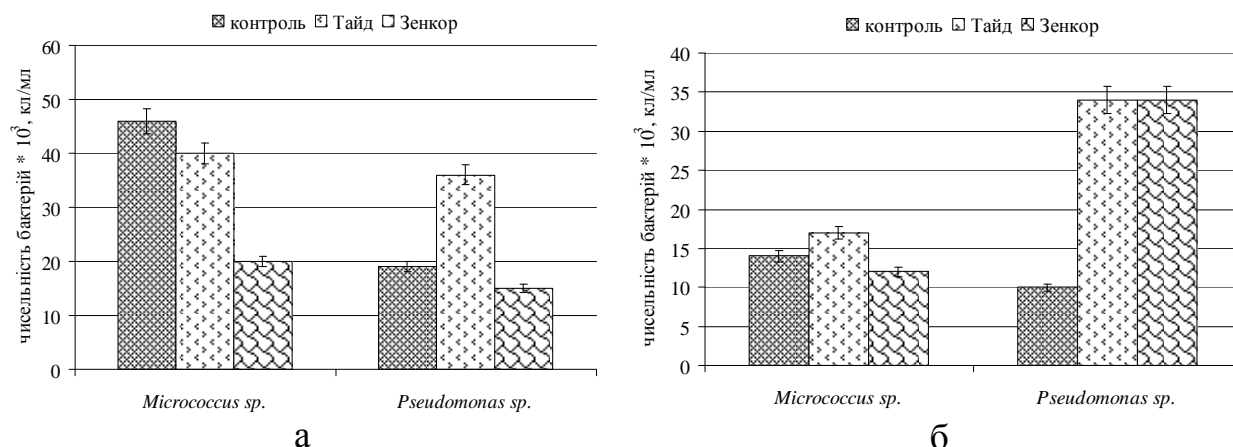


Рис. 1. Чисельність бактерій на поверхні тіла *Cyprinus specularis* – а та зябрах – б за дії СМЗ «Тайд» та гербіциду «Зенкор»

Різний вплив досліджуваних сполук на бактерії, які іммобілізовані на поверхні шкіри та зябрах можна пояснити їх нерівномірним розподілом в слизу. Контакт речовин з зябрами більш рівномірний. На шкірі можуть бути зони, де речовини знаходяться в низьких концентраціях, яких недостатньо для пригнічення чи для стимулювання життєдіяльності мікроорганізмів.

Відомо, що зябра виконують важливу бар'єрну функцію для організму риби. Через них здійснюється безпосередній контакт між водним середовищем і внутрішніми органами. При враженні зябер полутантами збільшується доступ до внутрішніх органів не лише цих речовин, а й різних мікроорганізмів із водного середовища [2, 3]. У здорової риби мікроорганізми на зябрах виконують захисну функцію, вони здатні очищати воду, яка надходить у внутрішні порожнини [3]. Вірогідно, саме таку функцію можуть виконувати бактерії роду *Pseudomonas*, що виявляється в значному збільшенні їх чисельності на зябрах за дії досліджуваних полутантів. Також відомо, що бактерії роду *Pseudomonas* беруть участь в трансформації основних класів органічних сполук, що використовують в якості пестицидів [4]. Слід зазначити, що бактерії роду *Pseudomonas* є умовно патогенними, які при дії стресових факторів можуть спровокувати інфекційні захворювання риби.

Отже, за внесення в середовище «Тайду» розвиток бактерій роду *Pseudomonas* стимулюється як на поверхні тіла так і на зябрах. При цьому розвиток бактерій роду *Micrococcus* на поверхні тіла пригнічується а на зябрах стимулюється. За наявності в середовищі «Зенкору» розвиток бактерій на поверхні шкіри інгібується, а на зябрах розвиток бактерій роду *Pseudomonas* стимулюється.

Мікроорганізми, асоційовані з поверхнею шкіри та зябер *Cyprinus specularis*, чутливо реагують на зміни водного середовища, пов'язані з надходженням сполук техногенного походження і тому їх доцільно використовувати як біоіндикатори.

Висновки

1. До складу мікробного ценозу поверхні шкіри та зябер *Cyprinus specularis* входять бактерії родів *Micrococcus* та *Pseudomonas*.
2. Визначено стимулюючу дію синтетичного миючого засобу «Тайд» щодо бактерій роду *Pseudomonas* як на поверхні тіла так і на зябрах та інгібуючу дію щодо бактерій роду *Micrococcus*. За наявності в середовищі гербіциду «Зенкор» розвиток бактерій рр. *Micrococcus* і *Pseudomonas* на поверхні шкіри інгібується, а на зябрах розвиток бактерій роду *Pseudomonas* стимулюється.
3. Бактерії, асоційовані з поверхнею шкіри та зябер *Cyprinus specularis*, доцільно використовувати як біоіндикатори стану водних екосистем.

1. Авдеева Е. В. Итоги бактериологических исследований рыб в рыбоводных хозяйствах различного типа и естественных водоемах Калининградской области / Е. В. Авдеева, О. В. Казимирченко // Успехи современного естествознания. — 2006. — № 1. — С. 29.
2. Андронников С.Б. Способ контроля воды на токсичность по жаберному аппарату / С.Б. Андронников, Э.В. Иванов, Т.М. Лукина, И.С. Шестерин // Методы ихтиотоксикологических исследований. — Л., 1987. — 344 с.
3. Кондратьева Л.М. Экологические аспекты изменения органолептических показателей ихтиофауны р. Амур в зимний период / Л.М. Кондратьева, Л.М., Чухлебова, В.Л. Рапопорт // Водные ресурсы. — 2000. — Т. 26, № 3. — С. 311—318.
4. Круглов Ю.В. Микрофлора почвы и пестициды / Ю.В. Круглов. — М.: Агропромиздат, 1991. — 128 с.
5. Лакин Г. Ф. Биометрия: [учеб. пособие для биол. спец. вузов] / Г. Ф. Лакин. — [4-е изд., перераб. и доп.]. — М.: Высш. шк., 1990. — 351 с.
6. Мартыненко В.И. Пестициды: справочник / В.И. Мартыненко. — М.: Агропромиздат, 1992. — 368 с.
7. Никитина С.М. Сезонная динамика грамотрицательных бактерий в микрофлоре грунтов, воды и организме европейского угря (*Anguilla anguilla* L.) Вислинского залива / С.М. Никитина, О.В. Казимирченко // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. — 2010. — Вып. 7. — С. 102—110.
8. *Определитель* бактерий Берджи: В 2 т.: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита и др. — Москва: Мир, 1997. — 432 с.
9. Руководство к практическим занятиям по микробиологии: Практ. пособие / Под ред. Н. С. Егорова. — М.: Изд-во Моск. ун-та., 1983. — 215 с.
10. Сергиенко Н.В. Бактериологические показатели лососей в естественных водоемах Камчатки / Н.В. Сергиенко. — Изд-во Камчатского государственного технического университета, 2012. — Т. 21, № 2. — С. 7—14.
11. Чухлебова Л.М. Микробиологическая индикация ихтиофауны водных экосистем / Л.М. Чухлебова // Оценка современного состояния микробиологических исследований в Восточно-Сибирском регионе: материалы Всерос. науч.-практ. конф. — Иркутск: ИГУ, 2001. — С. 161—162.

Н. Р. Демченко

Черниговский национальный педагогический университет имени Т. Г. Шевченко

РАЗВИТИЕ БАКТЕРИОЦЕНОЗА КАРПА ЗЕРКАЛЬНОГО (*CYPRINUS SPECULARIS*) ПОД ВЛИЯНИЕМ ПОЛЛЮТАНТОВ

Исследован состав бактериального ценоза поверхности кожи и жабр *Cyprinus specularis*. Выделенные изоляты бактерий по морфолого-культуральным и физиолого-биохимическим признакам отнесены к родам *Micrococcus* и *Pseudomonas*. Показано, что микрофлора рыб реагирует на изменения среды антропогенного характера.

Ключевые слова: бактерии родов *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Cyprinus specularis*, синтетическое моющее средство «Тайд», гербицид «Зенкор»

N. R. Demchenko

Chernihiv T. G. Shevchenko National Pedagogical University, Ukraine

DEVELOPMENT OF BACTERIOCENOSIS OF MIRROR CARP (*CYPRINUS SPECULARIS*) UNDER THE INFLUENCE OF POLLUTANTS

The composition of bacterial cenosis of skin and gill of *Cyprinus specularis* investigated. Isolates of bacteria by morphological, cultural, physiological and biochemical properties were related to *Micrococcus* and *Pseudomonas* genera. It is shown that, the microflora of fish reacts to changes in the environment of pollutants.

Keywords: bacteria *Micrococcus* and *Pseudomonas* genera, *Cyprinus specularis*, synthetic detergent "Tide", herbicide "Zenkor"

Рекомендує до друку

Надійшла 14.05.2015

В. З. Курант