

РОЗДІЛ III

Екологія

УДК 574.3: 579.26

Олександр Гулай

Дія секретів шкірних залоз *Abramis brama* на бактерії *Erysipelothrix rhusiopathiae*

З'ясовано, що продукти секреції шкірних залоз ляща звичайного (*Abramis brama*) *in vitro* здійснюють стимуляційний вплив на популяції патогенних бактерій *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Між піддослідними видами можливе формування топічних, трофічних та форичних типів біоценотичних зв'язків.

Ключові слова: шкірні виділення, *Abramis brama*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*.

Постановка наукової проблеми та її значення. Важливою умовою успішного ведення господарства на сучасному етапі інтенсифікації виробництва є використання та врахування низки досить складних екологічних процесів, що перебігають у природних та антропогенно-змінених екосистемах.

На думку багатьох дослідників, великий потенціал для господарського використання мають прісноводні екосистеми [1; 2]. Для їх ефективного та безпечного освоєння потрібні відомості про особливості екологічних зв'язків між різними групами гідробіонтів. Відомо, що вода – середовище існування та фактор передавання цілої низки патогенних мікроорганізмів [3–5], зокрема *Erysipelothrix rhusiopathiae* – грампозитивних бактерій, які мають вигляд прямих чи злегка зігнутих паличок. І хоча ці мікроорганізми спор та капсул не утворюють, однак володіють високою стійкістю до впливу несприятливих факторів середовища. Водночас *E. rhusiopathiae* здатні викликати захворювання, відоме під назвою бешиха (*Erysipelas*), у людей, сільськогосподарських тварин та птиці [6]. Виділяли цих бактерій і в цілому ряду холоднокровних тварин, зокрема риб, для яких *E. rhusiopathiae* розглядаються як сапрофіти [7–10].

E. rhusiopathiae здатні проникати до організму людини через мікротравми шкіри рук під час вилову чи обробки риби. При цьому вважають, що бактерії містяться у слизі на покриві риб [9]. Однак у науковій літературі відсутні результати дослідів щодо впливу прісноводних риб на патогенних бактерій *E. rhusiopathiae*. Ми поставили за мету вивчити та оцінити вплив секретів шкірних залоз прісноводних риб на популяції *E. rhusiopathiae*. Для досліджень було обрано найбільш поширені, а також важливі у господарському аспекті види риб. Результати досліджень, одержані щодо деяких з них, уже опубліковані [11; 12]. Цією роботою ми продовжуємо серію публікацій з опису впливу шкірних виділень різних видів прісноводних риб на патогенних бактерій *E. rhusiopathiae*.

Однією з поширених та цінних видів риб у водоймах України є лящ звичайний (*Abramis brama*). Як зазначає В. Д. Лебедєв та ін. [13], це не дуже рухлива риба, переважно перебуває біля дна в тихих і глибоких місцях, віддає перевагу водоймам зі сповільненою течією або стоячою водою. Лящ живиться личинками комах, кільчастими червами, моллюсками та іншими безхребетними [14].

Матеріал та методи досліджень. Живих лящів доставляли в лабораторію у пластикових мішках для транспортування риби. Тварин фіксували на лабораторному столі в боковому положенні. На верхній бік тіла накладали чистий фільтрувальний папір, попередньо змочений водою. Через 60 с чистим пінцетом папір знімали, подрібнювали та вкладали у скляні колби. Для екстракції шкірних виділень риб у колби додавали воду, що попередньо була взята з водогону та відстоювалася впродовж 48 год. Необхідний для екстракції об'єм води розраховували, виходячи зі співвідношення 0,1 см³ води на 1 см² площі фільтрувального паперу із секретами шкірних залоз риб. Після 60-хвилинної експозиції воду з колб відбирали і стерилізували під вакуумом за допомогою бактеріальних фільтрів з діаметром пор $\leq 0,2$ мкм.

Для тестування ми використовували бактерії *E. rhusiopathiae* штаму VR-2 var. IVM, який культивували впродовж 48 год на серцево-мозковому бульйоні (AES Chemunex, Франція) при температурі $36,7 \pm 0,3$ °C. Важливою умовою використання культур бактерій для досліджень був достатній ріст та відсутність самоаглютинації.

Намагаючись наблизити умови проведення експерименту до природних, дослідні зразки готували методом серійних розведень, у яких після внесення культур бактерій ($0,1 \text{ см}^3$) розчини шкірних виділень риб містились у співвідношеннях 1:10, 1:10; 1:100; 1:1000; 1:10000. Контрольні зразки мали аналогічні дослідним співвідношення об'ємів стерильної води та культур *E. rhusiopathiae*. Початковий вміст клітин бактерій у дослідних та контрольних зразках був однаковим, що досягалося використанням для відбору інокулятив однієї культури.

Облік щільності популяції *E. rhusiopathiae* проводили через 48 годин. З кожного зразка готували розведення 1×10^{-3} та 1×10^{-4} , з яких висівали по $0,1 \text{ см}^3$ у чашки Петрі на поверхню серцево-мозкового агару (AES Chemunex, Франція). Чашки Петрі з посівами культивували впродовж 72 годин у термостаті при $36,7 \pm 0,3$ °C. Колонії, що вирости, підраховували, після чого проводили розрахунок середньої кількості колонійутворювальних одиниць (КУО) бактерій *E. rhusiopathiae* на $1,0 \text{ см}^3$.

Знезараження посуду та використаних культур бактерій здійснювали обробкою 5 % розчином хлораміну та автоклавуванням при температурі $121,0 \pm 0,5$ °C упродовж 20 хв.

Оцінку екологічного впливу ляща звичайного на популяції *E. rhusiopathiae* проводили за критеріями, запропонованими в роботі [15].

Виклад основного матеріалу та обґрунтування отриманих результатів дослідження. Результати експериментальних досліджень, а також їх статистичну обробку [16] наведено в таблиці 1.

Аналіз одержаних даних показує, що вміст секретів шкірних залоз ляща звичайного у середовищі в розведенні 1:10 зумовлює досить потужний стимуляційний ефект у популяціях *E. rhusiopathiae*. Свідченням цього є суттєва та статистично достовірна різниця вмісту бактерій у дослідних та контрольних зразках. У середньому вміст бактерій у досліді був у 4,57 рази вищим, ніж у контролі.

Таблиця 1

Вміст *E. rhusiopathiae* у дослідних та контрольних зразках за умов впливу шкірних виділень ляща звичайного ($\times 10^6$ КУО / см^3)

№ досліду	Дослід (розведення виділень)				Контроль
	1:10	1:100	1:1000	1:10 000	
1	44,00	26,90	16,10	9,00	9,30
2	40,00	27,70	16,80	8,70	9,00
3	41,00	29,20	16,50	9,30	9,50
4	45,00	26,70	16,30	8,60	9,00
5	42,00	28,50	17,10	8,80	9,60
6	43,00	26,40	16,90	9,20	9,40
M*	42,50	27,57	16,62	8,93	9,30
σ	1,87	1,11	0,38	0,28	0,25
m	0,84	0,49	0,17	0,13	0,11
Для розведення 1:10	t = 39,32		при $t_{кр} = 4,59$;		P ≤ 0,001
Для розведення 1:100	t = 36,01		при $t_{кр} = 4,59$;		P ≤ 0,001
Для розведення 1:1000	t = 35,73		при $t_{кр} = 4,59$;		P ≤ 0,001
Для розведення 1:10 000	t = 2,17		при $t_{кр} = 2,23$;		P ≤ 0,05

*Примітка: M – середнє арифметичне; σ – середнє квадратичне відхилення; m – середня похибка; t – коефіцієнт Стюдента; $t_{кр}$ – критичне значення показника t; P – рівень імовірності.

Подібну закономірність відмічено у зразках із розведенням 1:100 шкірних виділень піддослідного виду риб. Щільність популяцій *E. rhusiopathiae* у досліді перевищувала аналогічний показник для контрольних зразків у 2,96 раз.

У наступній серії розведень шкірних виділень ляща звичайного 1:1000 різниця вмісту бактерій у дослідних та контрольних зразках становила 1,79 разу та була статистично достовірною. Однак при розведенні 1:10000 секретів шкірних залоз риб різниця вмісту *E. rhusiopathiae* у досліді та контролі становила лише 0,96 разу і не була достовірною.

Порівняння даних, одержаних у результаті проведених досліджень, чітко демонструє зниження інтенсивності стимуляційного впливу на популяції *E. rhusiopathiae* з боку ляща звичайного зі зменшенням концентрації секретів шкірних залоз риб у зразках. Зазначену закономірність доводить і статистична обробка даних із використанням коефіцієнта кореляції (r), величина якого становить $r = 0,89$, що вказує на високий (сильний) зв'язок між ознаками, які порівнювалися [16].

На нашу думку, виявлена закономірність пояснюється тим, що шкірні залози ляща звичайного виділяють секрет, у складі якого містяться речовини, що здійснюють на популяції *E. rhusiopathiae* описаний вище вплив. Зниження вмісту цих речовин у середовищі існування, яке було змодельоване в умовах експерименту різними розведеннями одержаних екстрактів шкірних виділень риб, спричиняло зменшення стимуляційного ефекту в популяціях *E. rhusiopathiae* аж до повного його зникнення при розведенні 1:10000.

Зважаючи на низький вміст (10 % звичайних умов культивування) поживних речовин для *E. rhusiopathiae* у контролі можна із впевненістю припустити, що бактерії у дослідних зразках використовували речовини, виділені шкірними залозами риб, як поживу. Це вказує на формування між досліджуваними видами трофічних взаємозв'язків.

Водночас, дослідями доведено, що риби, виділяючи в середовище існування продукти секреції своїх шкірних залоз, здатні змінювати умови існування *E. rhusiopathiae*, про що свідчить зміна щільності їх популяцій, а це у свою чергу вказує на формування між піддослідними видами топичного типу біоценотичних зв'язків.

Шкірні покриви риб є середовищем існування цілого ряду сапрофітних мікроорганізмів, зокрема флавобактерій, аеромонад, псевдомонад, ахромобактерій, мікрококів [17]. Результати наших досліджень підкріплюють наявне в науковій літературі твердження, що до складу мікрофлори покривів риб можуть входити бактерії *E. rhusiopathiae*.

Відомо, що *E. rhusiopathiae* не здатні до активного руху, а перебування на шкірних покривах таких рухливих представників гідрофауни, як риби створює для цих бактерій надзвичайно сприятливі умови для поширення в межах водойм. У результаті цього між лящем звичайним та *E. rhusiopathiae* можливе формування форичного типу біоценотичних зв'язків.

Враховуючи одержані результати досліджень та виходячи з даних, наведених у літературі, під час вилову та обробки прісноводної риби працівникам рибопереробних підприємств та пересічним громадянам слід захищати кисті рук, особливо за наявності мікротравм, гумовими рукавицями та вживати інших заходів для профілактики захворювання на бешиху.

Висновки та перспективи подальших досліджень.

1. В умовах експерименту присутність у середовищі секретів шкірних залоз ляща звичайного в розведеннях 1:10 – 1:1000 викликала збільшення щільності популяцій *E. rhusiopathiae* у досліді порівняно з контролем.

2. Стимуляційний ефект у популяціях *E. rhusiopathiae* від наявності у середовищі шкірних виділень ляща звичайного зникає при їх розведенні понад 1:10000.

3. В умовах прісноводних екосистем між видами *Abramis brama* та *E. rhusiopathiae* можливе формування трофічних, топичних та форичних біоценотичних типів зв'язків.

Враховуючи поширеність *E. rhusiopathiae* та їх патогенність для людей, сільськогосподарських і домашніх тварин, дослідження екологічних зв'язків цих бактерій із різноманітними видами прісноводних мешканців, зокрема риб, слід продовжувати. Актуальним вбачаємо визначення максимальної тривалості перебування *E. rhusiopathiae* у складі мікрофлори шкірних покривів риб.

Джерела та література

1. Садчиков А. П. Гидробиология. Прибрежно-водная растительность / А. П. Садчиков, М. А. Кудряшов. – М. : Академия, 2005. – 240 с.

2. Евстигнеев В. В. Основы сырьевой базы гидробионтов / В. В. Евстигнеев, М. А. Подуровский, В. П. Соловов. – Барнаул : Изд-во АлтГТУ, 1997. – 109 с.
3. Эпидемиологические аспекты экологии бактерий / В. Ю. Литвин, А. Л. Гинцбург, В. И. Пушкарева. – М. : Фармарус–Принт, 1998. – 255с.
4. Ovod A. A. Vegetale crops as a model for studying polyhostality *Listeria monocytogenes* / A. A. Ovod V. I. Pushkareva, S. A. Ermolaeva // European Innovation convention: 1st International scientific conferens (Vienna, Austria, 20–21 December 2013). – Vienna, 2013. – Section 3. – P. 105–112.
5. Pushkareva V. I. Hydrobionts as reservoir hosts for infectious agents of sapronoses / V. I. Pushkareva, S. A. Ermolaeva, V. Yu. Litvin // Biological Bulletin. – 2010. – № 37. – P. 1–10.
6. Борисович Ю. Ф. Инфекционные болезни животных : справочник / Ю. Ф. Борисович, Л. В. Кириллов. – М. : Агропромиздат, 1987. – 288 с.
7. Erysipelothrix rhusiopathiae isolates recovered from fish, a harbour seal (*Phoca vitulina*) and the marine environment are capable of inducing characteristic cutaneous lesions in pigs / T. Opriessnig, H. G. Shen, J. S. Bender, J. R. Boehm, P. G. Halbur // Journal of Comparative Pathology. – 2013. – 148 (4). – P. 365–372.
8. Lehane L. Topically acquired bacterial zoonoses from fish / L. Lehane, G. T. Rawlin // Medical Journal of Australia. – 2000. – № 173 (5). – P. 25–29.
9. Bruner G. Experimentelle Untersuchungen über Schweinrotlaufbakterien bei Fischen / G. Bruner // Zbl. Bacteriol. – 1938. – № 97. – P. 457–466.
10. Traer E.A. Erysipelothrix rhusiopathiae infection of a total knee arthroplasty an occupational hazard / E. A. Traer, M. R. Williams, J. N. Keenan // Arthroplasty. – 2008. – №23 (4). – P. 609–611.
11. Гулай О. В. Вплив шкірних виділень *Rhodeus sericeus* на патогенних бактерій / О. В. Гулай // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Серія: Біологія. – 2014. – № 2 (59). – С. 30–33.
12. Гулай О. В. Вплив шкірних виділень риб роду Cyprinidae на популяції патогенних бактерій / О. В. Гулай, О. М. Жуковський // Рибогосподарська наука України. – 2014. – №3 (28). – С.80 – 87.
13. Рыбы СССР / В. Д. Лебедев [и др.] ; под ред. Г. В. Никопольского и В. А. Григораш. – М. : Мысль, 1969. – 447 с.
14. Щербуха А. Я. Рыбы наших водоем / А. Я. Щербуха. – К. : Рад. шк., 1981. – 176 с.
15. Пат. 94462 Україна, МПК G01N 33/48 (2006/01). Спосіб оцінювання впливу екологічних факторів на популяції (культури) мікроорганізмів / О. В. Гулай, О. М. Жуковський, В. І. Гулай, В. В. Гулай, Н. П. Ткачук, заявл. 13.06.2014 ; опубл. 10.11.2014, Бюл. № 21.
16. Брандт З. Анализ данных. Статистические и вычислительные методы для научных работников и инженеров : пер. с англ. / З. Брандт. – М. : Мир, ООО «Изд-во АСТ», 2003. – 686 с.
17. Долганова Н. В. Микробиология рыбы и рыбных продуктов / Н. В. Долганова, Е. В. Першина, З. К. Хасанова. – М. : Лань, 2012. – 288 с.

Гулай Александр. Воздействие секретов кожных желез *Abramis brama* на бактерии *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Исследовано влияние кожных выделений ляща обыкновенного (*Abramis brama*) на популяции патогенных бактерий *Erysipelothrix rhusiopathiae*. В водной среде, содержащей выделения кожных желез *A. brama*, создаются благоприятные условия для размножения патогенных бактерий *E. rhusiopathiae*. В условиях пресноводных водоемов между патогенными бактериями *E. rhusiopathiae* и *A. brama* могут формироваться прямые биоценотические связи. Впервые получены количественные данные, которые демонстрируют стимулирующее влияние кожных выделений *A. brama* на популяции патогенных бактерий *E. rhusiopathiae*.

Стимулирующий эффект от влияния кожных выделений *A. brama* на популяции *E. rhusiopathiae* указывает на одно из возможных направлений долгосрочного сохранения этих патогенных агентов в гидробиоценозах. Выявленные экологические аспекты существования *E. rhusiopathiae* в пресноводных экосистемах должны приниматься во внимание при планировании и осуществлении мероприятий, направленных на профилактику рожистых заболеваний.

Ключевые слова: кожные выделения, *Abramis brama*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*.

Hulai Alexander. The effect of Cutaneous Secretions of *Abramis brama* on the Bacteria *Erysipelothrix Rhusiopathiae*. The investigation of the influence of cutaneous secretions of *Abramis brama* on the populations of pathogenic *Erysipelothrix rhusiopathiae* bacteria. Favorable conditions for the reproduction and increase in the density of populations of pathogenic *E. Rhusiopathiae* bacteria are formed in an aqueous environment that contains the secretions of skin glands of *A. brama*. In the conditions of freshwater ecosystems, direct topical biocenotical relations between pathogenic *E. rhusiopathiae* bacteria and the *A. brama* may be formed. The quantitative data that demonstrate the stimulating effect of cutaneous secretions of *A. brama* on the populations of pathogenic *E. rhusiopathiae* bacteria have been obtained for the first time. The stimulating effect of cutaneous secretions of *A. brama* populations on

E. rhusiopathiae indicates one of the possible directions of long-term persistence of these infectious agents in hydrobiocenoses. The revealed environmental aspects of the existence of pathogenic *E. rhusiopathiae* bacteria in freshwater ecosystems should be taken into consideration while planning and implementing measures aimed at preventing the erysipelas disease.

Key words: cutaneous secretions, *Abramis brama*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*.

Стаття надійшла до редколегії
28.01.2015 р.

УДК 595.76:502.51 (477.81)

Тетяна Гусаковська

Екологічний розподіл водних твердокрилих у біотопах Рівненської області

У статті представлено дослідження екологічного розподілу водних твердокрилих у біотопах різних типів водойм. Визначено видовий склад Hydradephaga, які відносяться до чотирьох екологічних груп (реобіонтів, реофілів, помірних реофілів, стагнофілів). Встановлено екологічну структуру популяцій Hydradephaga, що дасть змогу спрогнозувати сукцесійні процеси в екосистемах.

Ключові слова: колеоптерофауна, реобіонти, реофіли, стагнофіли.

Постановка наукової проблеми та її значення. Еколого-фауністичні дослідження водних твердокрилих північно-західного регіону України є актуальними при вивченні різних регіонів фауни. Відомості про фауну й екологію жуків потрібні для проведення моніторингових досліджень і біоіндикації водних об'єктів.

Упродовж останніх десятиріч дія антропогенних факторів на всі природні біоценотичні комплекси призводить до суттєвих, часто незворотних змін, тому виникає гостра потреба у вивченні закономірностей зміни комплексів водних твердокрилих, структури популяцій та їх чисельності.

Аналіз досліджень цієї проблеми. У роботах, присвячених екології водних Aderphaga, міститься достатній обсяг відомостей про середовище існування й інші особливості видів, проте узагальнених таких даних у літературі майже немає. Зокрема це стосується проблем систематизації [4; 5; 12; 13], біотопічної спеціалізації видів [1; 2; 6], порівняльного аналізу складу і структури угруповань різних водних об'єктів [3; 7; 8; 9; 10], а також зміни населення Hydradephaga в ході сукцесії водойм. Залишається відкритим питання про просторовий розподіл водних Aderphaga, зокрема за профілем літоралі й прибережної зони водойм.

До підряду Aderphaga відносять десять родин (Rhysodidae, Carabidae, Trachypachidae, Haliplidae, Gyrinidae, Noteridae, Amphizoidae, Aspidytidae, Hygrobiidae і Dytiscida. Родини Rhysodidae, Carabidae і Trachypachidae об'єднують у групу Geaderphaga (наземні Aderphaga), інші сім родин – у групу Hydradephaga (водні Aderphaga) [12]. Філогенія підряду Aderphaga обговорюється в низці сучасних робіт [13].

У цій розвідці прийнято систему водних Aderphaga найбільш авторитетних сучасних авторів [5; 12; 13].

Мета роботи – вивчити фауну водних твердокрилих підряду Aderphaga Західного Полісся Рівненської області, встановити відносну чисельність та біотичний розподіл водних Aderphaga.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження водної ентомофауни ми проводили упродовж 2010–2015 рр. Збирали матеріал за загальноприйнятими ентомологічними та гідробіологічними методиками [8; 10]. При визначенні видової приналежності зібраного матеріалу використано визначники ентомофауни [4; 5; 6; 11].

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження. У результаті вивчення водних екосистем було визначено 91 вид водних твердокрилих, що належать до родин Haliplidae, Dytiscidae, Gyrinidae, Hydrophilidae, у межах яких ми визначили екологічні групи (табл. 1).