

O.M. Arsan, Yu. M. Sytnik, L.O. Gorbatyuk, M.A. Myronyuk, Ye. A. Pasichnaya, M.A. Platonov, T.N. Shapoval, I.G. Kuklya

Institute Hydrobiology of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

FEATURES OF FORMING OF THE MODERN ECOLOGO-TOXICOLOGICAL STATE OF RESERVOIRS OF THE URBANIZED TERRITORIES AND ITS POSSIBLE CHANGES

Oils, general phenols and heavy metals have an effect on forming of the modern eco-toxicology state of the reservoirs, located within the scope of Kyiv (Kyiv area of Dnipro and lakes). These chemical substances deteriorative on the environmental quality doing impossible their use for fish breeding and recreation aims.

Key words: ecosystem, urbanized territories, oil, phenols, heavy metals, fishess, macrophytes

УДК [579.64+574.64:597.551.2].

О.В. БАРБУХО, А.О. ЖИДЕНКО

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

ЗАСТОСУВАННЯ ПРОБІОТИКУ БПС-44 ДЛЯ КОРИГУВАННЯ ПОРУШЕНЬ У РИБ ЗА ДІЇ РАУНДАПУ

Вивчали вплив сумісної дії раундапу (2 ГДК) та пробіотику БПС-44 на динаміку клітин *Bacillus subtilis* 44-р в організмі дворічок коропа. Пробіотичний препарат БПС-44 сприяє підвищенню загальної резистентності та покращенню фізіологічного стану організму риб в умовах гербіцидного забруднення водойм.

Ключові слова: короп лускатий, гербіциди, раундап, пробіотики, БПС-44, Bacillus subtilis 44-р, шкіра, зябра, слиз, кишечник

Застосування гербіцидів окрім позитивної дії в боротьбі з бур'янами має негативні наслідки, обумовлені їх токсичністю для водних організмів, зокрема для риб. У зв'язку з цим в рибогосподарській практиці постійно проводяться роботи з пошуку засобів підвищення захисних функцій організму риб до дії стрес-факторів. Останнім часом перевага надається пробіотикам – живим бактеріям, які сприятливо впливають на організм риб, шляхом зміни їх мікробного середовища, забезпечення ефективнішого використання їжі або підвищення її поживної цінності за рахунок збільшення опору організму риб до дії токсичних факторів [2].

В Інституті сільськогосподарської мікробіології УНААН на основі штаму *Bacillus subtilis* 44-р розробили препарат – “бацілярний субтіліс БПС-44”, що активно використовується у ветеринарії та медицині для коригування порушень фізіологічних процесів у молодняка великої рогатої худоби [1].

Метою роботи було дослідження можливості направленої формування мікробіоценозу корошових риб шляхом заселення їх кишечника пробіотичною мікрофлорою для підвищення резистентності організму риб до дії раундапу (2 ГДК). У зв'язку з внесенням пробіотику БПС-44 у воду дослідних ємностей, в яких знаходилася риба, доцільним було вивчити динаміку чисельності бактеріальних клітин *Bacillus subtilis* 44-р і у воді.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктом дослідження були дворічки коропа лускатого (*Cyprinus carpio* L.) масою 400–500 г, вирощені у ВАТ «Чернігіврибгосп». Рибу розміщували у акваріумах з відстояною водопровідною водою об'ємом 200 дм³ з розрахунку 1 екземпляр на 40 дм³ води у трьох варіантах: 1 – контроль, 2 – дія 2 ГДК гербіциду, 3 – сумісний вплив гербіциду і пробіотичного препарату БПС – 44 (у воду, крім вказаного гербіциду, за 2 доби до його внесення додавали препарат “бацілярний субтіліс БПС – 44”). В усіх випадках протягом 14-добового експерименту температура води змінювалася в межах + 5–10°C, вміст розчиненого кисню знаходився в межах фізіологічної норми (5,82±0,36 мг/ дм³). Воду в акваріумах замінювали кожні 2 доби.

У досліді використовували гербіцид *раундап*, концентрацію 2 ГДК, яку створювали внесенням розрахункових кількостей 36% розчину раундапу, а також додавали пробіотичний препарат БПС–44 з титром життєздатних клітин $1,25 \times 10^8$ КУО (колонійутворюючих одиниць)/дм³.

Посіви з шкіри, зябер, слизової оболонки та кишковика виконували на 7 та 14 добу експерименту від 5 екземплярів риб і були поставлені у 2-х повторностях. Для цього асептично ізольовані з переднього та заднього відділу кишечника шматочки кишковика (розміром $1 \times 1 \text{ см}^2$ без залишків слизу) гомогенізували у стерильній фарфоровій ступці, після гомогенат суспензували у стерильній воді у співвідношенні 1:1 (маса:об'єм), відстоювали 10 хв., брали 1 см^3 надосадової рідини і готували ряд послідовних десятикратних розведень від 10^{-1} до 10^{-4} , які у кількості $0,1 \text{ см}^3$ вносили на живильне середовище – м'ясо-пептонний агар [4]. Для визначення кількості *Bacillus subtilis* 44-р у слизу кишковика у пробірки з стерильною водою у співвідношенні 1:1 (маса:об'єм) вносили по 1 см^3 зіскребів з слизової оболонки переднього та заднього відділів кишковика, після чого робили ряд десятикратних розведень. З метою знищення неспорівної мікрофлори перед посівом проби прогрівали на водяній бані 10 хв при 80°C . Чашки накривали кришками, ставили на рівню поверхню до повного застигання і вміщували на 24–48 год в термостат [5]. Після термостатування проб при 28°C підраховували кількість колоній, що виростили на чашках. Також для дослідження динаміки клітин *Bacillus subtilis* 44-р у воді, в якій знаходилася риба, проводили відбір проб води та її кількісний посів на живильне середовище – м'ясо-пептонний агар [4].

Одержані результати оброблені статистично за допомогою програми Microsoft Excel. Відмінності між порівнюваними групами вважали достовірними при $* p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Зміна біоценозу у водоймі шляхом внесення різноманітних препаратів суттєво впливає на мікробіоценоз риб, у зв'язку з чим виникла необхідність вивчити динаміку клітин пробіотику БПС–44 у воді та на зовнішніх покриттях риб. За результатами дослідження показана наявність колоній *Bacillus subtilis* 44-р у воді, зябрах, стінках та слизу кишковика дворічок коропа за сумісної дії раундапу та пробіотику. Можна зробити висновок, що гліфосат не чинить негативної дії на ріст клітин *Bacillus subtilis* 44-р. Після внесення пробіотику БПС–44 у воду дослідних акваріумів клітини *Bacillus subtilis* 44-р рівномірно розподілялись у товщі водного середовища. Мікробіологічні дослідження води з акваріумів показали, що у воді з пробіотиком збільшується загальна кількість клітин *Bacillus subtilis* 44-р з $5,4 \pm 1,21 \times 10^3 \text{ КУО/см}^3$ на 7-у добу до $1,4 \pm 0,55 \times 10^4 \text{ КУО/см}^3$ на 14-у добу (рис.). Очевидно, що зростання кількості клітин *Bacillus subtilis* 44-р у акваріумі з пробіотиком відбувалося за рахунок внесення препарату у воду та мікробіоценозу риб. Отже, рівномірне розподілення клітин *Bacillus subtilis* 44-р пробіотику БПС–44 і їх тривале знаходження у воді сприятиме встановленню екологічної стабільності водного біоценозу. Раундап не перешкоджає поділу клітин *Bacillus subtilis* 44-р та збільшенню кількості їх колоній.

Слід зазначити, що значний ріст колоній спостерігався і у посівах з шкіри, що свідчить про наявність клітин *Bacillus subtilis* 44-р пробіотику БПС–44 на тілі риб. Зокрема, кількість бактеріальних клітин *Bacillus subtilis* 44-р збільшилась у 8,75 рази у варіанті з пробіотиком і становила $7,0 \pm 1,76 \times 10^3 \text{ КУО/см}^2$.

Бактерії пробіотику були виявлені і в посівах з зябер. Їх кількість протягом 7-ми діб збільшувалася до $2,8 \pm 0,37 \times 10^4 \text{ КУО/г}$ у риб з пробіотиком. При 14-добовому утримуванні риб у воді з раундапом та пробіотиком кількість клітин *Bacillus subtilis* 44-р у зябрах становила $4,8 \pm 0,74 \times 10^4 \text{ КУО/г}$, що у 2 рази більше, ніж на 7-му добу інкубації.

На 7-у добу експерименту при початковому значенні чисельності бактерій *Bacillus subtilis* 44-р у кишковика риб (передньому відділі) контрольної групи $4,0 \pm 0,24 \times 10^2 \text{ КУО/г}$ у риб з раундапом їх кількість значно зменшилась – до $6,0 \pm 0,4 \times 10^1 \text{ КУО/г}$ (у 6,7 разів), а у риб з пробіотиком зросла до $1,0 \pm 0,45 \times 10^3 \text{ КУО/г}$ (у 2,5 рази). Також збільшення кількості клітин *Bacillus subtilis* 44-р $6,4 \pm 0,87 \times 10^3$ у варіанті з пробіотиком (у 8 разів) відмічається на 14-у добу, що свідчить про заселення кишковика мікрофлорою під дією БПС–44.

Кількість клітин пробіотику БПС–44 у посівах суспензії тканини кишковика заднього відділу контрольної групи становила $4,0 \pm 0,24 \times 10^2 \text{ КУО/г}$ як на 7-у, так і на 14-у доби, а у варіанті з раундапом ріст колоній не відмічався, що можна пояснити малою кількістю вихідної мікрофлори кишковика та інгібуючою дією раундапу. Проте, слід відмітити, що титр клітин *Bacillus subtilis* 44-р є досить високим у варіанті дослідження з пробіотиком і знаходиться на рівні $2,8 \pm 0,58 \times 10^2$ – $5,4 \pm 1,12 \times 10^3 \text{ КУО/г}$ на 7-у та 14-у доби відповідно. Через 168 год чисельність клітин пробіотику у слизу переднього відділу кишковика поступово зростала – від $6,0 \pm 0,4 \times 10^2 \text{ КУО/см}^3$ в контролі до $3,6 \pm 0,75 \times 10^4 \text{ КУО/см}^3$ (у 60 разів) у риб з пробіотиком. Порівняно з 14-ю добою їх кількість була меншою у 1,5 рази в контролі і становила $4,0 \pm 0,25 \times 10^2 \text{ КУО/см}^3$, але більшою в 115 разів у варіанті з пробіотиком – $4,6 \pm 0,75 \times 10^4 \text{ КУО/см}^3$. В групі з раундапом рісту типових колоній не було. У слизі заднього відділу кишковика на 7-у добу експерименту клітини *Bacillus subtilis* 44-р виявлені в

кількості $8,0 \pm 0,37 \times 10^2$ КУО/см³ і знижують активність до 0 у групі з раундапом, але збільшують до $2,2 \pm 0,86 \times 10^4$ КУО/см³ у варіанті з пробіотиком (у 27,5 рази). На 14-у добу також спостерігалася тенденція до збільшення чисельності бацил препарату від $2,0 \pm 0,20 \times 10^2$ КУО/см³ в контролі до $1,8 \pm 0,37 \times 10^4$ КУО/см³ у варіанті з пробіотиком (у 90 разів), що можна пояснити кращими умовами для заселення кишковика риб пробіотичною мікрофлорою. В подальшому це призводить до підвищення протинфекційної стійкості організму, регулювання та стимулювання травлення риб, продукування біологічно-активних речовин, які здатні нейтралізувати токсини бактерій та шкідливі метаболіти [3, 6]. Так, в нашому експерименті підвищення кількості бактерій *Bacillus subtilis* 44-р у воді, на зовнішніх покривах та зябрах дворічок коропа перешкоджає утворенню виразок, крапкових крововиливів, набряків на їх плавцях та зовнішніх покривах. Ці явища спостерігали на рибках в акваріумах з раундапом, але без пробіотику.

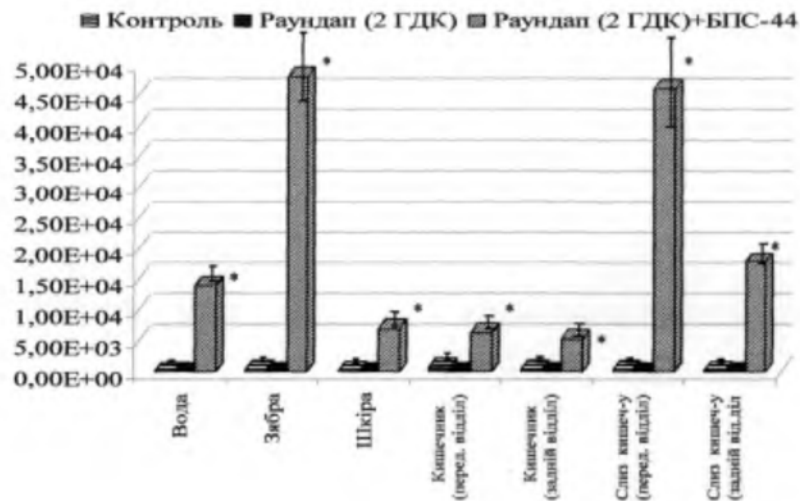


Рис. Кількість клітин *Bacillus subtilis* 44-р пробіотику БПС-44 у воді та в організмі коропа на 14 добу експерименту

Висновки

Аналіз результатів досліджень дозволяє стверджувати, що в умовах гербіцидного забруднення водойм застосування пробіотичного препарату БПС-44 у кількості 125 млн. клітин *Bacillus subtilis* 44-р/дм³ вже на 7-у добу сприяє покращенню фізіологічного стану організму риб, підвищенню його загальної резистентності, а також позитивно впливатиме на збереження екологічної стабільності водного біоценозу та об'єктів аквакультури. Одержані результати свідчать про перспективність застосування пробіотичного препарату БПС-44 в аквакультурі для корекції негативного впливу гербіцидів.

1. Агеев В.О. Антиоксидантний та імунний статус молодняка ВРХ за дії пробіотичних препаратів БПС-44 та БПС-Л / В.О. Агеев, С.В. Дерев'яно, Г.М. Дяченко [та ін.] // Наук. вісник Львівськ. нац. ун-ту ветерин. медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. – 2008. – Т. 10, № 3. – Ч. 1. – С. 10–17.
2. Антибиотики и пробиотики в аквакультуре / Л.Н. Юхименко, Л.И. Бычкова, А.В. Пименов и [др.] // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси Сборник научных трудов. – Вып. 24. – Мат. межд. научно-практич. конф. „Стратегия развития аквакультуры в современных условиях”. Минск, 11–15 августа 2008. – С. 504 – 506.
3. Карасева Т.А. Влияние препарата «сухая бактериальная культура ацидофильной палочки» на здоровье и рост радужной форели / Т.А. Карасева, Н.К. Воробьева, М.А. Лазарева // Тез. докл. науч.-практ. конф. “Марикультура Северо-Запада России”. – Мурманск, 2000. – С. 22–23.
4. Методы общей бактериологии / под ред. Ф. Герхардта и др. [пер. с англ. Е.Н. Кондратьевой и Л.В. Калакуцкого]: в 3 т. – М. : Мир, 1984. – Т.3. – 264 с.
5. Теттер Е.З. Практикум по микробиологии / Е.З. Теттер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева. – 2-е изд., пер. и доп. – Москва: Колос, 1979. – С. 196–197.
6. Hansen G.H. Bacterial interactions in early life studies of marine cold water fish / G.H. Hansen, J.A. Olafsen // Microb. Ecol. – 1999. – Vol. 38, N1. – P. 1–26.

О.В. Барбухо, А.О. Жиденко

Черниговский национальный педагогический университет им. Т.Г. Шевченко, Украина

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОБИОТИКА БПС-44 ДЛЯ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ У РЫБ ПРИ ДЕЙСТВИИ РАУНДАПА

Изучали влияние совместного действия раундапа (2 ПДК) и пробиотика БПС-44 на динамику клеток *Bacillus subtilis* 44-р в организме двухлеток карпа. Установлено, что пробиотический препарат БПС-44 способствует повышению резистентности и улучшению физиологического состояния организма рыб в условиях гербицидного загрязнения водоемов.

Ключевые слова: карп чешиуйчатый, гербициды, раундап, пробиотики, БПС-44, *Bacillus subtilis* 44-р, кожа, жабры, слизь, кишечник

О.В. Barbukho, A.O. Zhidenko

Chernihiv National Taras Shevchenko Pedagogical University, Ukraine

APPLICATION OF PROBIOTIC BPS-44 FOR CORRECTION OF VIOLATIONS IN FISH AT ACTIONS OF ROUNDUP

The influence of the united action of roundup (2 MAC) and probiotic BPS-44 on the dynamics of *Bacillus subtilis* 44-p cells in the organism of two-year-old carps is studied. It is found that probiotic preparation BPS-44 promotes the increase of resistance and the improvement of the physiological state of fish organism in the conditions of herbicide pollution of water objects.

Key words: carp, herbicides, roundup, probiotic, BPS-44, *Bacillus subtilis* 44-p, skin, gill, mucus, intestine

УДК (577.34:581.526.3)(28)(477)

В. В. БЕЛЯЄВ

Інститут гідробіології НАН України

пр-т Героїв Сталінграда, 12, Київ 04210, Україна

ФОРМУВАННЯ ДОЗИ ОПРОМІНЕННЯ ОЧЕРЕТУ ЗВИЧАЙНОГО ЗА УМОВ ВОДОЙМИ-ОХОЛОДЖУВАЧА ЧАЕС

Вивчали формування поглинутої дози *Phragmites australis* водойми-охолоджувача Чорнобильської АЕС. Враховували особливості вертикального розподілу органів/тканин рослини та радіонуклідів. Встановлено, що середня поглинена за рік доза опромінення рослини складала 14–31 мГр/рік, максимальна – до 550 мГр/рік.

Ключові слова: доза, вищі водні рослини, радіонукліди

При використанні ядерної енергії виникає загроза забруднення навколишнього середовища радіоактивними речовинами. Кінцевою ланкою міграції більшості радіонуклідів є водні екосистеми. Штучні радіонукліди збільшують фон опромінення всіх організмів. Іонізуюча радіація провокує в клітинах складні фізичні та фізико-хімічні процеси, що призводять до розвитку радіобіологічних ефектів. В дослідженнях відзначається, що радіобіологічні ефекти функціонально залежать від поглинутої організмом дози опромінення. Останнім часом з'явилися роботи, в яких вказується на ефекти, пов'язані з опроміненням повітряно-водних рослин зони відчуження аварії на ЧАЕС [8]. Особливості фізіології водних рослин та розподілу радіонуклідів у водних екосистемах вимагають модифікації методик розрахунку дозових навантажень, що розроблені для наземних рослин. Для водних екосистем як референтного виду обрано представника групи занурених рослин – водоперицю колосисту. Однак параметри, що отримані для водопериці колосистої не зовсім коректно використовувати при розрахунку дози опромінення повітряно-водних рослин. Разом з тим саме повітряно-водні рослини в більшості водойм домінують за біомасою [2, 4]. Тому метою нашої роботи було оцінити формування дози опромінювання повітряно-водних рослин на прикладі очерету звичайного водойми-охолоджувача ЧАЕС (ВО ЧАЕС).