

БІОРЕСУРСИ ТА ЕКОЛОГІЯ ВОДОЙМ

УДК 574.2

ФОРМУВАННЯ ЕКОЛОГІЧНИХ ЗВ'ЯЗКІВ *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE* З *RICCIA FLUITANS* У ГІДРОБІОЦЕНОЗАХ

О.В. Гулай, ol.gulay@rambler.ru, Інститут агроекології і природокористування НААН, м. Київ

О.М. Жукорський, o_zhukorskiy@ukr.net, Національна академія аграрних наук України, м. Київ

Мета. Дослідження особливостей екологічних зв'язків між патогенними бактеріями *Erysipelothrix rhusiopathiae* та річчею плаваючою (*Riccia fluitans*).

Методика. Водні розчини з зажиттєвими та постлетальними виділеннями *R. fluitans* стерилізували шляхом фільтрації під вакуумом через фільтри з діаметром пор 0,2 мкм. Після додавання культур *E. rhusiopathiae* дослідні зразки містили виділення річчії плаваючої у розведеннях 1:10, 1:100, 1:1000 та 1:10000. Як контроль використовували стерильну воду з водогону в об'ємі, аналогічному дослідним зразкам, в яку додавали таку ж кількість культури *E. rhusiopathiae*. Після 48-годинної експозиції зразків відбирали проби для визначення щільності популяцій бактерій.

Результати. Речовини, що *R. fluitans* виділяє у середовище в період активної вегетації, здатні здійснювати стимулюючий вплив на щільність популяцій *E. rhusiopathiae* лише у малих розведеннях.

В результаті процесів розкладу *R. fluitans* виділяються речовини, які бактерії *E. rhusiopathiae* здатні використовувати, активно збільшуючи свою щільність у середовищі існування.

У гідробіоценозах між *R. fluitans* та бактеріями *E. rhusiopathiae* формуються біотичні зв'язки топічного типу, внаслідок чого у заростях цієї рослини еризипелотрикси знаходять сприятливі умови існування впродовж усього року.

Наукова новизна. Вперше досліджені екологічні взаємозв'язки патогенних бактерій *E. rhusiopathiae* з водною рослиною *R. fluitans*.

Практична значимість. Патогенні бактерії *E. Rhusiopathiae*, перебуваючи у складі прісноводних екосистем, можуть становити загрозу зараження людей та тварин. Екологічні чинники, що впливають на чисельність та існування еризипелотриксів у водоймах, мають важливе епідеміологічне та епізоотичне значення.

Ключові слова: *Riccia fluitans*, зажиттєві та постлетальні виділення, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, стимулюючий вплив, екологічні зв'язки.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Відомо, що вода є не лише середовищем існування цілого ряду видів живих істот, але й виступає як чинник передавання збудників небезпечних інфекцій [1]. Зокрема, одним з таких патогенних мікроорганізмів є бактерії *Erysipelothrix rhusiopathiae* — грампозитивні, нерухомі палички, що не мають джгутиків та не здатні утворювати спори і капсули [2]. Разом з цим, еризипелотрикси досить поширені в природі та стійкі до впливу багатьох несприятливих чинників. Здатність уражувати широке коло господарів — від людей та



сільськогосподарських тварин до амфібій, риб та безхребетних [3-7], надає цим бактеріям особливого епізоотичного та епідеміологічного значення не тільки в Україні, а й далеко за її межами.

Тривалість перебування патогенних бактерій в об'єктах зовнішнього середовища визначається цілим рядом екологічних чинників, у тому числі і впливом з боку інших компонентів природних угруповань [8, 9]. Дослідження особливостей екологічних зв'язків, в які вступають бактерії *E. rhusiopathiae* у гідробіоценозах та їх вплив на тривалість існування та щільність популяцій еризипелотриксів має важливе практичне значення. На жаль, в науковій літературі міститься мало інформації про особливості біоценотичних зв'язків *E. rhusiopathiae* з компонентами прісноводних біоценозів [10]. Подібна інформація є необхідною при виявленні та оцінці потенціалу природних вогнищ бешихи (захворювання, що викликається бактеріями *E. rhusiopathiae*), а також для складання коротко- та довгострокових прогнозів щодо строків небезпечності різних типів територій та акваторій. Для одержання інформації щодо характеру та ступеня екологічних взаємодій *E. rhusiopathiae* необхідно провести цілий ряд лабораторних та польових досліджень з широким колом гідробіонтів, насамперед з поширеними (фоновими) видами.

ВИДІЛЕННЯ НЕВИРШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ. МЕТА РОБОТИ

У малопроточних та стоячих водоймах в багатьох регіонах України можна часто натрапити на представника водних мохоподібних — річчю плаваючу (*Riccia fluitans* L.) [11]. Слань цього виду рослин, лінійна, зеленого або жовто-зеленого кольору, дихотомічно розгалужена, 0,5 – 1,0 мм завширшки, плаває на поверхні води, інколи трапляється на вологому ґрунті [12]. На деяких ділянках водойм, розростаючись, річчя плаваюча вкриває поверхню води суцільним шаром. Існують відомості про негативний вплив цього виду рослин на сапрофітну мікрофлору [13].

З огляду на значне поширення та здатність своїми виділеннями пригнічувати мікроорганізми, нами було обрано вид *R. fluitans* для вивчення та оцінки впливу на популяції патогенних бактерій *E. rhusiopathiae*.

Мета даної роботи — дослідження особливостей екологічних зв'язків між патогенними бактеріями *E. rhusiopathiae* та річчю плаваючою (*R. fluitans*).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Річчю плаваючу культивували у скляних місткостях об'ємом 0,5 дм³ на воді, взятій з водогону, за температури + 20,0 ± 2,0 °С в умовах природного освітлення. Співвідношення сирової біомаси рослини до об'єму води складало 1:50. Зразки для тестування з зажиттєвими виділеними рослинами відбирали через 7 діб після початку культивування. З метою одержання постлетальних виділень річчю плаваючу поміщали у темряву до втрати сланню зеленого кольору. Після 7-денної експозиції відбирали зразки для тестування. Водні розчини з виділеннями *R. fluitans* стерилізували шляхом фільтрації під вакуумом через фільтри з діаметром пор 0,2 мкм. Для проведення досліджень патогенні бактерії *E. rhusiopathiae* попередньо вирощували за температури + 36,7 ± 0,3 °С впродовж 2 діб на серцево-мозковому бульйоні (AES Chemunex, Франція).



З метою усунення небажаного впливу сторонніх неконтрольованих чинників, дослідження проводили *in vitro* за умов, наближених до природних. Для створення градієнта концентрацій виділення *R. fluitans* розводили стерилізованою водою з водогону. Після додавання культур *E. rhusiopathiae* дослідні зразки містили виділення річчі плаваючої у розведеннях 1:10, 1:100, 1:1000 та 1:10000. Як контроль використовували стерильну воду з водогону в об'ємі, аналогічному дослідним зразкам, в яку додавали таку ж кількість культури *E. rhusiopathiae*. Оскільки еризипелотрикси для інокуляції відбирались з однієї культури, то початковий вміст бактерій у дослідних та контрольних зразках був однаковим. Після 48-годинної експозиції зразків відбирали проби для визначення щільності популяції бактерій. З кожного дослідного чи контрольного зразка відбирали $0,1 \text{ см}^3$ вмісту і після декількох послідовних розведень стерильною водою висівали на поверхню серцево-мозкового агару (AES Chemunex, Франція). Чашки Петрі з посівами культивували за температури $+ 36,7 \pm 0,3 \text{ }^\circ\text{C}$ впродовж 72 годин. Підрахунок колоній еризипелотриксів, що виростили за вказаний період, підраховували за допомогою мікроскопа МБС-10. Для зручності аналізу даних кількість живих бактерій у дослідних та контрольних зразках розраховували на об'єм $1,0 \text{ см}^3$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Порівняння щільності еризипелотриксів у дослідних та контрольних зразках вказувало, що зажиттєві виділення річчі плаваючої здійснюють вплив на популяції *E. rhusiopathiae* лише за високої концентрації. Так, щільність бактерій у дослідних зразках з розведеннями зажиттєвих виділень 1:10 була більшою ніж у контролі на 28,0 %. Статистичне опрацювання [14] цих результатів показало, що виявлена різниця є достовірною. Проте, із збільшенням ступеня розведення зажиттєвих виділень річчі плаваючої (від 1:100 до 1:10000) виявлений ефект стимуляції розмноження еризипелотриксів зникає (табл. 1).

Таблиця 1. Щільність клітин *E. rhusiopathiae* у дослідних та контрольних зразках за умов впливу зажиттєвих виділень *R. fluitans*

№ досліду	Щільність клітин <i>E. rhusiopathiae</i> , млн / см^3				
	Дослід (розведення виділень)				контроль
	1:10	1:100	1:1000	1:10 000	
1	1,40	1,00	1,20	1,20	1,10
2	1,10	1,20	1,40	1,10	1,05
3	1,20	1,00	1,00	1,00	0,90
4	1,40	1,30	1,10	1,30	1,30
5	1,40	1,10	1,30	0,90	1,10
6	1,50	1,30	1,10	1,00	0,80
М*	1,33	1,15	1,18	1,08	1,04

Для розведення 1:10 $t = 2,83$ при $t_{кр} = 2,23$; $P = 0,05$

Для розведення 1:100 $t = 1,09$ при $t_{кр} = 2,23$; $P = 0,05$

Для розведення 1:1000 $t = 1,39$ при $t_{кр} = 2,23$; $P = 0,05$

*Примітка. Тут і далі: М — середнє арифметичне; t — коефіцієнт Стюдента;

$t_{кр}$ — критичне значення параметра t ; P — рівень ймовірності розведення 1:10 000 $t = 0,41$ при $t_{кр} = 2,23$; $P = 0,05$

Суттєвий стимулюючий ефект спостерігався у піддослідних популяціях *E. rhusiopathiae* у всьому діапазоні використаних розведень виділень. Найбільшою — 8 разів - була різниця щільності клітин еризипелотриксів в



дослідних та контрольних зразках з малим розведенням — 1:10 постлетальних виділень *R. fluitans*. Зменшення концентрації виділень у 10 та 100 разів (розведення 1:100 та 1:1000) позначилось на показниках стимулюючого впливу.

Щільність бактерій у дослідних зразках була в середньому у 5,28 та 2,17 рази відповідно вищою, ніж у контролі. Навіть за максимальних значень розведень постлетальних виділень річчії плаваючої - 1:10000, які випробовувались в експериментах, стимулюючий ефект у популяціях *E. rhusiopathiae* досить чітко спостерігався. При цьому в середньому щільність бактерій у дослідних зразках була на 67,57 % вищою, ніж у контролі. Статистичне опрацювання результатів підтвердило достовірність виявленої різниці щільності клітин в дослідних та контрольних зразках у всьому діапазоні розведень. Результати, одержані у серії дослідів з вивчення впливу на популяції бактерій постлетальних виділень річчії водяної, наводяться у таблиці 2.

Таблиця 2. Щільність клітин *E. rhusiopathiae* у дослідних та контрольних зразках за умов впливу постлетальних виділень *R. fluitans*

№ досліду	Щільність клітин <i>E. rhusiopathiae</i> , млн / см ³				
	Дослід (розведення виділень)				контроль
	1:10	1:100	1:1000	1:10 000	
1	5,30	3,10	1,30	1,20	0,60
2	4,80	2,50	1,50	0,40	0,50
3	5,00	3,50	1,20	0,70	0,70
4	5,50	3,40	1,40	1,20	0,60
5	4,90	3,50	1,30	1,40	0,50
6	5,00	2,70	1,40	1,30	0,80
М	5,08	3,12	1,35	1,03	0,62

Для розведення 1:10 t = 34,60 t_{кр} = 2,23; P = 0,05

Для розведення 1:100 t = 12,52 t_{кр} = 2,23; P = 0,05

Для розведення 1:1000 t = 10,44 t_{кр} = 2,23; P = 0,05

Для розведення 1:10 000 t = 2,27 t_{кр} = 2,23; P = 0,05

Результати одержаних досліджень дозволяють зробити певні узагальнення та припущення щодо екологічних взаємодій між досліджуваними видами в природних умовах.

В теплий період року, під час активної вегетації річчії плаваючої, на ділянках водойм та прибережної смуги у заростях цієї рослини для еризипелотриксів складаються сприятливі умови для існування. Хоча стимулюючий ефект з боку захиттєвих виділень річчії плаваючої на еризипелотриксів встановлено лише у незначних розведеннях, все ж, негативного впливу популяції цих бактерій не зазнають. Із настанням холодного періоду року, коли активна життєдіяльність *R. fluitans* припиняється, значна частина біомаси цієї рослини, утворена за вегетаційний період, піддається розкладу за участі великої кількості живих організмів, насамперед бактерій та грибів. При цьому виділяється цілий ряд речовин, присутність яких, як показали дослідження, сприяє активному збільшенню щільності, а відповідно і біомаси *E. rhusiopathiae* у середовищі існування.



ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

Зажиттєві виділення *R. fluitans* здійснюють (*in vitro*) виразний стимулюючий вплив на популяції бактерій *E. rhusiopathiae* лише у малих розведеннях.

Продукти розкладу біомаси *R. fluitans* у всьому діапазоні випробуваних розведень активно стимулювали розмноження бактерій *E. rhusiopathiae*, про що свідчить збільшення щільності їх популяції у дослідних зразках.

В умовах прісноводних екосистем між *R. fluitans* та бактеріями *E. rhusiopathiae* формуються біотичні зв'язки топічного типу, внаслідок чого у заростях цієї рослини еризипелотрікси знаходять сприятливі умови існування впродовж усього року.

Виявлений потужний стимулюючий вплив постлетальних виділень річчії плаваючої на популяції *E. rhusiopathiae* розкриває невідомі до цього часу особливості екології цих патогенних бактерій. З огляду на практичне значення бактерій *E. rhusiopathiae* як збудників захворювань людей та тварин, дослідження особливостей їх біоценотичних зв'язків у прісноводних екосистемах необхідно продовжувати.

ЛІТЕРАТУРА

1. Эпидемиологические аспекты экологии бактерий / [Литвин В. Ю., Гинцбург А. Л., Пушкарева В. И. и др.]. — М. : Фармарус–Принт, 1998. — 255 с.
2. Борисович Ю. Ф. Инфекционные болезни животных : Справочник / Ю. Ф. Борисович, Л. В. Кириллов; под. ред. Д. Ф. Осидзе. — М. : Агропромиздат, 1987. — 288 с.
3. Головачева В.Я. Сохранение возбудителя псевдотуберкулеза, листериоза и эризипелоида в почве нор грызунов / В.Я. Головачева // Особо опасные инфекции в Сибири и Дальнем Востоке : Доклад Иркутского противочумного института. — 1966. — С. 73—75.
4. Воронин Е. С. Рожжа свиней: профилактика и меры борьбы / Е. С. Воронин, М. В. Воронина. — М. : ВНИИТЭНагропром, 1987. — 46 с.
5. Экология микроорганизмов / [Нетрусов А. И., Бонч-Осмоловская Е. А., Горленко В. М. и др.]. — М. : Академия, 2004. — 272 с.
6. Шустова Н. М. Природные резервуары условно-патогенных бактерий / Н. М. Шустова, Ю. А. Дубровский // Потенциально патогенные бактерии в природе. — 1991. — С. 30—42.
7. Сомов Г. П. Сапрофитизм и паразитизм патогенных бактерий: экологические аспекты / Г. П. Сомов, В. Ю. Литвин. — Новосибирск : Наука, 1988. — 203 с.
8. Определитель высших растений Украины / [Доброчаева Д. Н., Котов М. И., Прокудин Ю. Н. и др.]. — К. : Наукова думка, 1987. — 546 с.
9. Чорна Г. А. Рослини наших водойм / Чорна Г. А. — К. : Фітосоціоцентр, 2001. — 134 с.
10. Садчиков А. П. Гидробиология: прибрежно-водная растительность / А. П. Садчиков, М. А. Кудряшов. — М. : Академия, 2005. — 240 с.
11. Урбах В. Ю. Биометрические методы / Урбах В. Ю. — М. : Наука, 1964. — 412 с.

REFERENCES

1. Litvin, V. Y., Ginzgurg, A. L., Pushkareva, V. I., i dr. (1998). *Epidemiologytshiskiyе aspekty ekologiyi bacteriy*. Moscow: Farmarus-Print.



2. Borisovich, Y. F., & Kirillov, L. V. (1987). *Infektsionnye bolezni zhivotnich: Spravochnik*. Moscow: Agropromizdat.
3. Golovacheva, V. Y. (1966). Sokhranenie vzbuditelia psevdotuberkuloza, listerioza i erizipeloida v pochve nor gryzunov. *Doklady Irkutskogo protivochumnogo instituta*. Irkutsk: Nauka. 73-75.
4. Voronin, E. S. & Voronina, M. V. (1987). *Rozha svinei: profilaktika i mery borby*. Moscow: VNIITENagroprom.
5. Netrusov, A. Y., Bonch-Osmolovskaya, E. A., Gorlenko, V. M., i dr. (2004). *Ekologiya mikroorganizmov*. Moscow: Akademiya.
6. Shustova, N. M., & Dubrovskiy, Y. A. (1991). *Prirodnye rezervuary uslovno-patogenykh bakterii*. Moscow: Agropromizdat. 30-42.
7. Somov, G. P. & Litvin, V. Y. (1988). *Saprofitizm i parazitizm patogenich bakterii*. Novosibirsk: Sibirskoe otdelenie Nauka.
8. Dobrochaeva, D. N., Kotov, M. I., Prokudin, Yu. N., i dr. (1987). *Opredelitel visshikh rastenii Ukrainy*. Kiev: Naukova Dumka.
9. Chorna, G. A. (2001). *Rosliny nashikh vodoim*. Kiev: Fitosociotsentr.
10. Sadchikov, A. P., & Kudryashov, M. A. (2005). *Gidrobotanika: Pribrezhno-vodnaya rastitelnost*. Moscva: Akademiya.
11. Urbach, V. Y. (1964). *Biometricheskie metody*. Moscva: Nauka.

ФОРМИРОВАНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE* С *RICCIA FLUITANS* В ГИДРОБИОЦЕНОЗАХ

О.В. Гулай, ol.gulay@rambler.ru, Институт агроэкологии и природопользования НААН, г. Киев

О.М. Жукорский, o_zhukorskiy@ukr.net, Национальная академия аграрных наук Украины, г. Киев

Цель. Исследование особенностей экологических связей между патогенными бактериями *Erysipelothrix rhusiopathiae* и риччией плавающей (*Riccia fluitans*).

Методика. Водные растворы с прижизненными и постлетальными выделениями *R. fluitans* стерилизовали путем фильтрации под вакуумом через фильтры с диаметром пор 0,2 мкм. После внесения культур *E. rhusiopathiae* опытные образцы содержали выделения риччии плавающей в разведениях 1:10, 1:100, 1:1000 и 1:10000. В качестве контроля использовали простерилизованную водопроводную воду в объеме, аналогичном опытным образцам, в которую вносили такое же количество культур *E. rhusiopathiae*. После 48-часовой экспозиции образцов отбирали пробы для определения плотности популяций бактерий.

Результаты. Вещества, которые *R. fluitans* выделяет в среду в период активной вегетации, способны осуществлять стимулирующее влияние на популяции *E. rhusiopathiae* лишь в малых разведениях.

В результате процессов деструкции, проходящих после отмирания *R. fluitans*, выделяются вещества, которые бактерии *E. rhusiopathiae* способны использовать, активно увеличивая свою плотность в среде существования.

В гидробиоценозах между *R. fluitans* и бактериями *E. rhusiopathiae* формируются биотические связи топического типа, вследствие чего в зарослях этого растения эризипелотрикссы находят благоприятные условия существования в течение всего года.

Научная новизна. Впервые исследованы экологические взаимосвязи патогенных бактерий *E. rhusiopathiae* с водным растением *R. fluitans*.

Практическая значимость. Патогенные бактерии *E. rhusiopathiae*, пребывая в составе пресноводных экосистем, могут представлять угрозу заражения людей и животных.



Экологические факторы, влияющие на численность и существование эризипелотрикс в водоемах, имеют важное эпидемиологическое и эпизоотическое значение.

Ключевые слова: *Riccia fluitans*, прижизненные и постлетальные выделения, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, стимулирующее влияние, экологические связи.

FORMATION OF ENVIRONMENTAL RELATIONS BETWEEN *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE* AND *RICCIA FLUITANS* IN HYDROBIOCENOSSES

O. Gulay, ol.gulay@rambler.ru, Institute of Agroecology and Environmental Management NAAS, Kyiv

O. Zhukorskiy, ozhukorskiy@ukr.net, National Ukrainian Academy of Agrarian Sciences, Kyiv

Purpose. To study ecological relationships between the pathogenic bacteria *Erysipelothrix rhusiopathiae* and *Riccia fluitans*.

Methodology. Aqueous solutions of *in vivo* and post-lethal secretions of *R. fluitans* were sterilized by vacuum filtration through filters with pore diameter of 0.2 microns. After adding *E. rhusiopathiae*, the samples under study contained the secretions of *Riccia fluitans* in 1:10, 1:100, 1:1000 and 1:10000 dilutions. As a control, sterile tap water was used in a volume similar to the samples, in which the same amount of *E. rhusiopathiae* was added. After a 48-hour exposure, the test samples were taken to determine the density of bacterial populations.

Findings. The substances, emitted by *R. fluitans* during the active growing period, are capable of producing a stimulating effect on *E. rhusiopathiae* populations only in low dilutions.

As a result of degradation processes taking place after the death of *R. fluitans*, there is a production of substances, which *E. rhusiopathiae* bacteria can actively use to increase their density in the medium. In hydrobiocenoses, *R. fluitans* and *E. rhusiopathiae* form topical-type biotic relations; as a result, *erysipelothrix* find favorable conditions to exist in thickets of this plant throughout the year.

Originality. Environmental relations of *E. rhusiopathiae* with aquatic plant *R. fluitans* have been studied for the first time.

Practical value. Pathogenic bacteria *E. rhusiopathiae*, being a part of freshwater ecosystems, can threaten humans and animals with infection. The environmental factors that influence the quantity and existence of *erysipelothrix* in reservoirs have important epidemiological and epizootic significance.

Key words: *Riccia fluitans*, *in vivo* and post-lethal secretions, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, stimulating effect, environmental relations.