

УДК 619:612.017:639:3.215.2

О. В. КРУШЕЛЬНИЦЬКА,

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького

**ВПЛИВ ГІДРОХІМІЧНОГО ТА МІКРОБІОЛОГІЧНОГО СТАНУ
РИБНИЦЬКИХ СТАВІВ ДОСЛІДНОГО ГОСПОДАРСТВА
«МИКОЛАЇВСЬКА РИБОВОДНО-МЕЛІОРАТИВНА СТАНЦІЯ» НА
ПОКАЗНИКИ ПРИРОДНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ КОРОПА**

*Проведено гідрохімічні та мікробіологічні дослідження ставової води, а також вивчено деякі аспекти імунітету коропа. Встановлено взаємозв'язок між гідрохімічними показниками (прозорість, БСК5, перманганатна окиснюваність) та мікробіологічними фоном досліджуваних ставів (*E. coli*, *S. aureus*, *A. hydrophila*), а також їхній вплив на природну резистентність риби (лізоцим, БАСК, ФАЛ, ЦІК).*

Ключові слова: ставова вода, короп, гідрохімія, мікробіологія, бактерії, природна резистентність.

Рибне господарство відіграє значну роль у забезпеченні галузей національної економіки сировиною, а населення – продуктами харчування. Забруднення навколишнього середовища негативно впливає на екологічний стан водойм, що, в свою чергу, призводить до зменшення кількості основних видів риби [2]. Природна резистентність риби — це вроджена здатність їх організму протистояти агресивному впливу патогенних факторів біотичної та абіотичної природи, в тому числі, збудників інфекційних та інвазійних захворювань. На даний час все більшого значення набувають техногенні впливи на середовище, в тому числі і водне, що викликає пригнічення вродженого і набутого імунітету та розвитку інфекційних хвороб риби. Саме це і є однією з найбільших проблем промислового рибництва [3, 4, 5, 6].

Таким чином для раціонального рибництва у ставах та природних водоймах необхідно визначати і контролювати гідрохімічні та мікробіологічні показники водойм, так, як водойми є сприятливим природним середовищем для існування багатьох мікроорганізмів. У воду вони проникають із ґрунту, повітря, виділень людей і тварин, з відходами, стічними водами тощо [1, 2, 4].

Саме тому **метою** роботи було дослідження взаємозв'язку між гідрохімічним станом водойм і бактерійним фоном води, а також вивчення їх впливу на резистентність риби.

Матеріали та методи. Дослідження води проводили на чотирьох ставах дослідного господарства «Миколаївська рибоводно-меліоративна станція». Для одержання об'єктивних даних про бактеріальне забруднення досліджуваних ставів проби відбирали у чотирьох місцях кожного ставу, в сонячну, безвітряну погоду. Вивчення морфологічних, тинкторіальних, культуральних, біохімічних,

гемолітичних та патогенних властивостей виділених мікроорганізмів проводили з використанням методів загальної мікробіології (Біргер М.О., 1983; Герхард Ф., 1983; Антонов Б.І., 1986). Ідентифікацію виділених культур мікроорганізмів проводили за визначником бактерій Берджі [1]. З гідрохімічних показників досліджували температуру, прозорість, концентрацію водневих іонів, біохімічну потребу в кисні за п'ять діб і перманганатну окиснюваність [2, 7]. В крові, яку брали безпосередньо з серця коропа одноліток, із показників природної резистентності визначали фагоцитарну активність лейкоцитів (ФАЛ), бактерицидну активність сироватки крові (БАСК), лізоцим та рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК).

Результати досліджень. На підставі проведених мікробіологічних та гідрохімічних досліджень, а також аналізу кількісного розвитку природної кормової бази досліджуваних вирощувальних ставів, яка була однаковою та достатньою для рибної фауни і не мала негативного впливу на фізіологічні показники риб став № 1 – взято за контроль, так як усі досліджувані показники знаходилися у допустимих межах.

Результати спостережень за гідробіологічними показниками (табл. 1) свідчать про те, що температурний режим в усіх досліджуваних ставах відповідав вимогам, необхідним для вирощування коропа. Проте, показник прозорості води, був різним у досліджуваних ставах. Так, у літній період найвищою виявилася прозорість води у ставах №1 та 2 і становила відповідно $0,71 \pm 0,06$ м та $0,65 \pm 0,06$ м, найнижчою вона була у ставах три та чотири (відповідно $0,59 \pm 0,05$ м та $0,54 \pm 0,05$ м), а в осінній період: $0,76 \pm 0,07$ м і $0,79 \pm 0,08$ м у ставах № 1 та 2. і $0,49 \pm 0,05$ м та $0,47 \pm 0,05$ м відповідно у ставах № 3 та 4. Такі різниці у показниках прозорості обумовлені різним вмістом завислих у воді неорганічних і органічних частинок у вигляді муті, крім того більша прозорість вказує на інтенсивніші продукційно-деструкційні процеси у воді.

Тісно пов'язана з фізико-хімічним станом води концентрація водневих іонів (рН), яка має велике значення для життєдіяльності водних організмів (табл. 1). Коливання рН у ставах проявляється внаслідок потрапляння у них органічних і мінеральних речовин антропогенного походження, а також за рахунок надходження оксидів сірки з атмосфери, тому вказані дослідження проводять при зміні поведінки риби.

Таблиця 1

Гідробіологічні та гідрохімічні дослідження води ($M \pm m$, $n=10$)

показник	сезон	СТАВ			
		№1	№2	№3	№4
температура, °C	весна	19,9±0,9	19,9±0,8	19,6±0,8	19,6±0,5
	літо	22,1±0,6	22,1±0,6	22,5±0,7	22,1±0,6
	осінь	17,7±0,8	18,2±0,7	18,2±0,7	19,0±0,6
	зима	5,7±0,6	5,4±0,7	5,7±0,5	5,3±0,5
прозорість, м	весна	0,91±0,09	0,90±0,08	0,85±0,08	0,83±0,07
	літо	0,71±0,06 _{oo}	0,65±0,06 _{oo}	0,59±0,05 _{oo}	0,54±0,05 _{ooo}
	осінь	0,76±0,07	0,79±0,08	0,49±0,05 _{oooo **}	0,47±0,05 _{ooo ***}
	зима	1,04±0,09	0,96±0,09	0,92±0,08	0,90±0,07
рН	весна	7,43±0,07	7,39±0,06	7,30±0,05	7,25±0,07
	літо	7,22±0,07 _o	7,20±0,06 _o	7,19±0,05	7,16±0,05
	осінь	7,33±0,06	7,38±0,06	7,27±0,05	7,23±0,06
	зима	7,55±0,07	7,41±0,06	7,45±0,07	7,37±0,07
БСК ₅ , мг О ₂ /л	весна	4,38±0,30	4,40±0,30	4,48±0,36	4,51±0,36
	літо	5,89±0,35 _{ooo}	5,92±0,34 _{ooo}	6,27±0,38 _{ooo}	6,29±0,33 _{oooo}
	осінь	5,37±0,34 _o	5,42±0,34 _o	6,15±0,35 _{ooo}	6,46±0,35 _{oooo *}
	зима	3,49±0,40	4,40±0,30	4,48±0,35	4,55±0,34
перманганатна окиснюваність, мг О ₂ /л	весна	8,50±0,40	8,60±0,35	8,70±0,39	8,78±0,35
	літо	10,5±0,44 _{oooo}	12,40±0,63 _{oooo}	13,50±0,54 _{oooo}	14,30±0,73 _{oooo}
	осінь	2,40±0,47	9,60±0,43	9,60±0,43	10,50±0,43 _{ooo}
	зима	7,60±0,35	8,40±0,37	8,60±0,35	8,60±0,35

Примітка:

* - $P < 0,05$;** - $P < 0,01$;*** - $P < 0,001$.o - $P < 0,05$;oo - $P < 0,01$;ooo - $P < 0,001$

У досліджуваних рибогосподарських ставах величина рН знаходилася у межах 7,25±0,06 - 7,38±0,07 на усіх місцях відбору води для дослідження. Враховуючи те, що для рибогосподарських потреб найкраще використовувати воду з нейтральною або слаболужною реакцією (рН 7–8), у крайньому випадку –

із слабоекислою реакцією (рН 6–7), вода за вказаним показником у досліджуваних ставках відповідала санітарно-гігієнічним вимогам.

Для життєдіяльності риби та інших водних гідробіонтів велике значення має розчинений у воді кисень. Він частково проникає у воду з атмосфери, а також виділяється у самій водоймі у результаті життєдіяльності рослинних організмів.

Вміст розчиненого у воді кисню є найбільш важливим для риби. Він впливає, як на активність, так і на ріст та розвиток риби. Вміст його змінюється залежно від температури, атмосферного тиску, інтенсивності вітрового перемішування води, а також від наявності фітопланктону, вищих водних рослин, вмісту органічних речовин. Нестача розчиненого у воді кисню викликає пригнічення риби, а в окремих випадках їх масову загибель у результаті задухи.

Відносно показника біохімічного споживання кисню за п'ять діб (БСК₅), який вказує на біохімічне аеробне розкладання органічних речовин, що містяться у воді, то він виявився різним у воді досліджуваних ставів. Так, до I категорії (умовно чистих) за середнім показником можна віднести став №1. Вода у ставках № 2 і 3 до другої категорії чистоти (умовно забруднених) та став № 4 до III категорії (умовно забруднених).

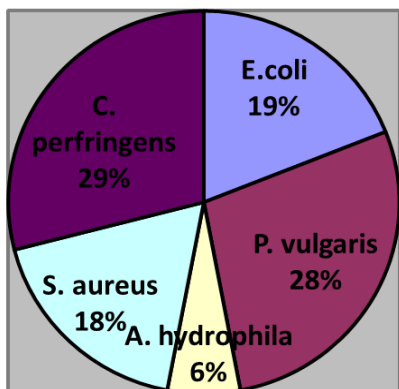
Однак, за середнім показником не завжди можна оцінити забруднення води ставу органічними речовинами. Як видно із наведених у таблиці 1 даних, у всіх рибогосподарських ставках відбувається наростання БСК₅ відносно ступеню його забруднення, що свідчить про посилення біохімічного аеробного розкладання органічних речовин.

Певним підтвердженням вищого рівня органічних речовин у воді є також підвищена перманганатна окиснюваність (табл. 1). За середніми даними досліджуваній показник виявився найнижчим у ставі № 1 ($9,00 \pm 0,42$ мг O₂/л), дещо вищим він був у ставі № 2 ($9,75 \pm 0,45$ мг O₂/л) та у ставі № 3 ($10,1 \pm 0,43$ мг O₂/л), а у ставі № 4 він досяг найвищого рівня серед усіх досліджуваних ставів ($10,55 \pm 0,47$ мг O₂/л).

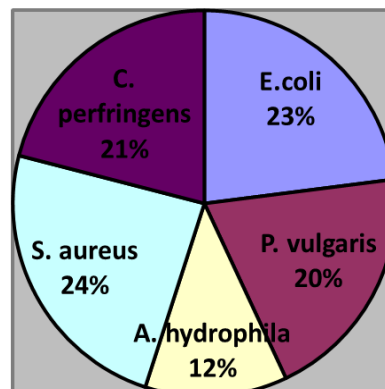
Таким чином, дані таблиці 1 свідчать, що у ставі № 4, спостерігалось значне органічне навантаження, на що вказують особливості рівня БСК₅ та перманганатної окиснюваності. Отже, став № 1 за усіма гідробіологічними та гідрохімічними показниками належать до I категорії умовно чистих, став № 2 та 3 – до II категорії (умовно забруднених), а четвертий стави – до III категорії умовно забруднених органічними речовинами.

Наступним етапом нашої роботи було дослідження бактеріального фону водойм. Природна мікрофлора води – це сапрофітні гетеротрофні мікроорганізми, що населяють воду і ґрунт ставів, представлені в основному бактеріями, які здійснюють процеси мінералізації органічних речовин, приймають участь у взаємоперетворенні сполук азоту, фосфору, заліза, марганцю тощо. Крім того, у водойми заносяться і зберігають життєздатність протягом досить довгого відрізка часу і навіть розмножуються багато патогенних мікроорганізмів – збудників інфекційних захворювань як самої риби, так і людини.

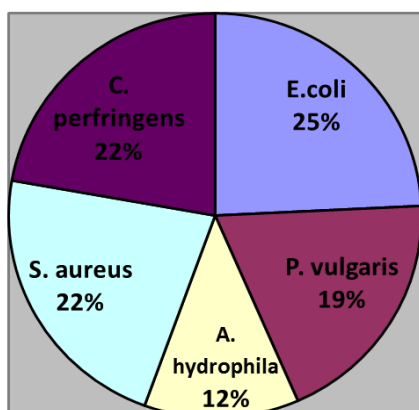
Бактеріальний фон води досліджуваних ставів



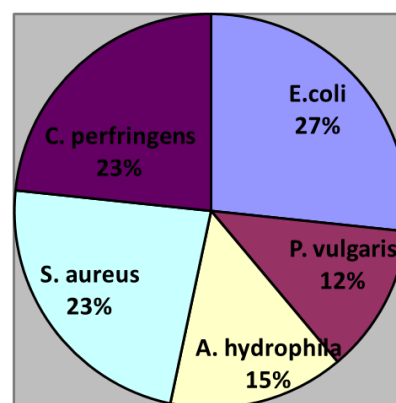
Став 1



Став 2



Став 3



Став 4

У результаті проведених бактеріологічних досліджень проб води було ізольовано 24 культури (рис. 1). Для визначення їх систематичного положення були вивчені їхні біологічні особливості за морфологічними, культуральними і фізіолого-біохімічними ознаками. При ідентифікації цих мікроорганізмів було диференційовано п'ять груп мікроорганізмів. До 1-ї групи було віднесено *P. vulgaris*, до 2-ї групи – *E. coli*, до 3-ї групи – *A. hydrophila*, до 4-ї групи – *S. aureus*, а до 5-ї групи – *C. perfringens*. Враховуючи співвідношення виділених культур мікроорганізмів відсоток *E. coli* зростає з 19 % у контрольному ставі до 23-25 % у забруднених ставах та 27 % у брудному ставі, *A. hydrophila* з 6 % до 12 % та 14 %, *S. aureus* з 18 % до 22 – 23 % та 24 %.

Таким чином, проведеними бактеріологічними дослідженнями підтверджено попередній розподіл ставів на умовно чистий (став № 1), умовно забруднений (став № 2, 3) та умовно брудний (став № 4).

Гідрохімічний та бактеріальний фон води досліджуваних ставів знайшов своє відображення у резистентності риби. У результаті дослідження рівня лізоциму крові коропа 4 –х ставів різної ступені забрудненості було встановлено (табл. 2), що у риби ставів № 3 і 4, де забрудненість води була значною, вміст лізоциму крові був нижчим у літньо – осінній період ($P < 0,001$). При чому, найбільш суттєві зміни було встановлено у літній період коли рівень лізоциму

крові знижувався найбільше (на 2,9 % і 2,7 % відповідно у риби ставу № 3 і 4, порівняно із рибою ставу № 1). Встановлено також тенденційне зменшення лізоциму крові у весняний та зимовий період (у весняний період – на 2,9-3,1 % та у зимовий період на 2,2-2,3 % у риби із забруднених ставів порівняно із контрольним ставом). У риби ставу № 2 із помірним ступенем забруднення порівняно із рибою ставу №1 достовірних змін не встановлено у всі періоди року, хоча схильність до зниження спостерігалася.

Що стосується сезонних особливостей, то у літньо–осінній період рівень лізоциму був вищим у риби усіх дослідних ставів. Найменшим вміст лізоциму був у весняний період і деяке зменшення концентрації лізоциму спостерігалось у зимовий період. Особливо суттєвими були зміни у літньо - зимовий період у риби ставу № 3 і 4 та осінній період – риби ставу № 2 ($P<0,05$) на 1,9 %.

Досліджуючи фагоцитарну активність лейкоцитів (ФАЛ) встановлено: що у ставах, які було віднесено до категорії забруднених спостерігалась її зниження особливо у літньо -осінній період ($P<0,001$).

Найбільш суттєві зміни було встановлено в осінній період, коли фагоцитарна активність лейкоцитів знижувалась на 10,9 % у риби як ставу № 3, так і ставу № 4, порівняно з рибою ставу № 1. Також спостерігалися достовірні зміни фагоцитарної активності лейкоцитів і у зимовий період, коли вона зменшувалась у риби із ставу № 3 і 4 відповідно на 10,2 % та 9,0 %, у порівнянні з рибою ставу № 1.

Бактерицидна активність сироватки крові (БАСК) є інтегральним показником природної здатності крові до самоочищення від мікроорганізмів і служить чутливим тестом для виявлення ранніх змін в організмі в результаті антигенного навантаження. Саме тому, досліджуючи цей показник було встановлено, що ступінь забруднення ставів має безпосередній вплив на його рівень, про що свідчать отримані результати (табл. 2). Так у риби із ставу № 3 та 4, де забрудненість була найвищою рівень БАСК зростав, зокрема, у літньо – осінній період ця різниця була достовірною ($P<0,01$, $P<0,005$).

Таблиця № 2

Фактори природної резистентності коропа ($M\pm m$, $n=10$)

показники	період	С т а в			
		№1	№2	№3	№4
ЛІЗОЦИМ, %	весна	14,4 \pm 0,71	13,5 \pm 0,67	11,3 \pm 0,54	11,5 \pm 0,54
	літо	16,3 \pm 0,72	15,0 \pm 0,72	13,2 \pm 0,68 о ***	13,4 \pm 0,68 о ***
	осінь	16,1 \pm 0,69	15,6 \pm 0,69 о	13,1 \pm 0,65 о ***	13,3 \pm 0,68 о ***
	зима	14,7 \pm 0,70	14,2 \pm 0,85	12,4 \pm 0,72	12,7 \pm 0,66
ФАЛ, %	весна	45,2 \pm 1,2	43,3 \pm 1,3	36,2 \pm 1,1	35,1 \pm 1,1
	літо	46,7 \pm 1,4	44,2 \pm 1,2	39,1 \pm 1,2 ****	38,2 \pm 1,2 ****
	осінь	48,1 \pm 1,8	45,5 \pm 1,3	37,2 \pm 1,2 ****	37,2 \pm 1,2 ****
	зима	44,2 \pm 1,2	41,1 \pm 1,2	34,0 \pm 1,1 ****	35,2 \pm 1,1 ****

БАСК, %	весна	20,8±1,1	21,4±1,1	24,6±1,3 _о	26,1±1,4 _{ooo}
	літо	23,1±1,2	24,5±1,3	29,4±1,2 _{oooo **}	29,7±1,3 _{oooo}
	осінь	24,5±1,3 _*	25,4±1,1 _{**}	31,2±1,4 _{ooo ***}	30,6±1,4 _{ooo *}
	зима	23,7±1,3	24,3±1,2	28,3±1,4 _о	28,5±1,2 _{oo}
ЦК, ммоль/л	весна	47,8±1,2	47,7±1,3	52,1±1,2 _{oo}	53,9±1,3 _{ooo}
	літо	49,9±1,3	52,0±1,3 _*	58,1±1,8 _{oo **}	60,9±1,5 _{oooo ***}
	осінь	52,0±1,2 _{**}	52,0±1,2 _*	55,4±1,1	58,0±1,8 _{oo}
	зима	49,0±1,3	50,0±1,3	51,0±1,3 _{oo}	53,9±1,1 _{oo}

Найбільш суттєві зміни спостерігалися в осінній період, коли рівень БАСК найбільше зростав у риби ставів № 3 і 4 порівняно із коропом першого ставу відповідно на 6,7 % та 6,1 %.

У дослідженні сезонних особливостей було встановлено, що у літньо-осінній період рівень БАСК зростав у риби усіх дослідних ставів. Найменшим вміст БАСК був у весняний період із подальшим збільшенням у літньо-осінній період та наступним зменшенням концентрації БАСК у зимовий період.

Слід відзначити, подібність посезонних змін рівня БАСК із вмістом лізоциму крові, оскільки лізоцим також має бактерицидну активність.

Циркулюючі імунні комплекси (ЦК) характеризують ступінь утворення комплексів антиген-антитіло в організмі тварин спрямований на елімінацію патогенних антигенів. Досліджуючи циркулюючі імунні комплекси було встановлено, що найвища вірогідність у проведених дослідженнях спостерігалася у літній період в ставах із вищим бактеріальним забрудненням. Так, у ставі № 3 їх рівень сягав 58,1±1,8 ммоль/л та у ставі № 4 60,9±1,5 ммоль/л, порівняно із ставом № 1, а також, в осінній період у ставі № 4 вірогідність сягала $P < 0,1$ порівняно із ставом № 1.

Таким чином, отримані результати досліджень факторів природної резистентності коропа свідчать про безпосередній зв'язок із бактеріальним забрудненням досліджуваних ставів, та сезонності.

Висновки:

1. Враховуючи співвідношення виділених культур мікроорганізмів відсоток *E. coli* зростав з 19 % у контрольному ставі до 23-25 % у забруднених ставах та 28 % у брудному ставі, *A. hydrophila* з 6 % до 12 та 14 % та *S. aureus* з 18 % до 22 – 24 та 23 % відповідно.

2. Встановлено пряму залежність між зростанням бактеріального забруднення ставів, обумовленого зокрема *E. coli*, *S. aureus*, *A. hydrophila* та гідрохімічним станом, що виражається у зниженні прозорості ставової води з 0,96±0,09 м до 0,47±0,05 м, а також сприяє зростанню біологічного споживання

кисню за п'ять діб з $5,37 \pm 0,34$ до $6,46 \pm 0,35$ мг O_2 /л та перманганатної окиснюваності з $10,5 \pm 0,44$ до $14,3 \pm 0,73$ мг O_2 /л.

3. Високе антигенне навантаження у забруднених ставах викликає підвищення рівня циркулюючих імунних комплексів з $49,9 \pm 1,3$ до $60,9 \pm 1,5$ ммоль/л.

4. Забрудненість ставів є причиною активування таких неспецифічних факторів імунітету, як лізоциму на 2,9 %, фагоцитарної активності лейкоцитів на 10,9 % та бактерицидної активності сироватки крові на 6,6 %.

Список використаної літератури

1. Воробйов А. А. і ін. Мікробіологія // М.: Медицина, 2003.- 336с.
2. Гринжесвський М. В., Андрущенко А. І., Третяк О.М. і ін. Основи фермерського рибного господарства // – К.: Світ, 2000. – 240 с.
3. Иванов А. А. Физиология рыб // – М.: Мир, 2003. – 280 с.
4. Романенко В. Д., Жукинский В. Н. Актуальные проблемы и достижения Украинской гидроэкологии в области экологической оценки состояния поверхностных водных объектов // Гидробиол. журнал.– 2003, Т.39, №1.– С. 3-20.
5. Секретарюк К. В., Лобойко Ю. В. Еколого-цитогенетичний моніторинг при вирощуванні коропа у рибницьких ставах // Наковий вісник ЛДАВМ ім. С. З. Гжицького. –Л., 2000. –Т. 2 (№ 2). –Ч. 4. –С. 126–129.
6. Секретарюк К. В., Стрижак О. І., Лобойко Ю. В. Вплив основних гідрохімічних показників на організм вирощуваних риб // Сільський господар. – Л., 2003. –№ 9 –10.– С. 29 – 30.
7. СОУ 05.01-37-385:2008. Вода рибогосподарських підприємств. Загальні вимоги та норми.

INFLUENCE OF THE GIDROKHEMICHNOGO AND MICROBIOLOGICAL STATE OF FISH-FARMING PONDS OF EXPERIMENTAL ECONOMY «MYKOLAIV RIBOVODNO-RECLAMATIVE THE STATION» ON INDEXES OF NATURAL RESISTENTNOSTI OF CARP/Krushelnytska O.

Studied hydrochemical and microbiological status of ponds water. Relationship between hydrochemical parameters (transparency, BSK5, permanganate oxidation) and microbiological background (E.coli, S.aureus, A.hydrophila) of study ponds investigated, and their impact on the ability of fish carts.

Рецензент – кандидат ветеринарних наук, Л. М. Виговська