

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ НА ЕСТЕСТВЕННЫХ ВОДОЕМАХ БРЯНСКОЙ И БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТЕЙ

Л. Н. Юхименко*, А. А. Дружинина*, А. Н. Паршуков**

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства», Московская обл., Дмитровский район, пос. Рыбное

**Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Республика Карелия, г. Петрозаводск

Приведены результаты изучения проб воды и паренхиматозных органов рыб из естественных водоемов Брянской и Белгородской областей в 2012–2015 гг. В Белгородской области было отобрано 84 пробы воды из 54 точек, в Брянской — 34 пробы воды из 22 точек. Всего было исследовано 118 проб воды из 76 точек и 56 проб печени и почек от 28 рыб (6 рыб из Брянской области и 22 — из Белгородской). Особое внимание обращали на условно-патогенные бактерии, имеющие эпизоотическое и эпидемиологическое значение. В Брянской области микробиоценоз воды оз. Бытошь и р. Десна был представлен моракселлами, ацинетобактерами, бактериями группы кишечной палочки (БГКП), энтерококком, миксобактериями. В 2015 г. в посевах воды появились БГКП с бронзовым блеском и цитробактеры, высоковирулентные аэромонады. Разброс общего микробного числа (ОМЧ) был от 40 до 54280 КОЕ/мл. В Белгородской области отбор проб проводили на Белгородском и Старооскольском водохранилищах, реках Оскол и Северский Донец. ОМЧ в разные сезоны и года колебалось от 60 до 26040 КОЕ/мл. Микробиоценоз воды был представлен аэромонадами, моракселлами, ацинетобактером, цитробактером, БГКП, миксобактериями, энтерококком. Вирулентность выделенных аэромонад колебалась от 0 мм зоны деполимеризации ДНК до 9,0 мм. Из 22 обследованных рыб в посевах от четырех рост бактериальной флоры не выявлен. В остальных посевах весной выявлены моракселлы, цитробактер, ацинетобактеры, БГКП и аэромонады, а летом — БГКП, ацинетобактер, цитробактер и аэромонады. Показана роль антропогенного загрязнения в изменении микробиоценозов.

Ключевые слова: естественные водоемы; микробиоценоз воды; микробиоценоз рыбы; условно-патогенные бактерии.

Введение

Каждый водоем в естественном состоянии заселен микроорганизмами, занимающими различные экологические ниши. Среди основных групп бактерий выделяются гетеротрофные, участвующие в самоочищении водных экосистем, потребляющие органические вещества. Загрязнение водоема оказывает непосредственное влияние на аборигенную водную микрофлору и микробиоценоз рыб, изменяя их количественные и качественные соотношения. В этих условиях бактериальные показатели позволяют выявлять различные источники и виды антропогенного воз-

действия, следствием которого могут быть структурные изменения в сообществах, имеющие как эпизоотическое, так и эпидемиологическое значение. Для мониторинга эпизоотической ситуации было начато изучение видового состава рыбопатогенных и эпидемиологически значимых микроорганизмов в естественных водоемах путем проведения комплексной оценки микробиоценологических сообществ и определения этиологической структуры выделенных микробиологических агентов.

Материал и методы исследования

Отбор проб осуществляли в 2012–2015 гг. Для исследований воды были выбраны водоемы Брянской и Белгородской областей: во-

© Л. Н. Юхименко, А. А. Дружинина,
А. Н. Паршуков

дохранилища и реки с различными точками отбора проб.

Видовой состав изученных рыб представлен такими видами, как плотва, окунь, судак,

укляя, лещ, карась, густера, красноперка, жерех, линь и щука. Всего исследовано 76 проб воды из 118 точек и 56 проб паренхиматозных органов от 28 рыб (табл. 1 и 2).

Таблица 1 — Общее количество исследованных проб воды

Область	Водоем	Количество точек	Количество проб
Белгородская	Старооскольское водохранилище	25	32
	Река Оскол	7	18
	Река Северский Донец	2	4
	Белгородское водохранилище	20	30
	<i>Итого</i>	54	84
Брянская	Река Десна	17	27
	Озеро Бытошь	5	7
	<i>Итого</i>	22	34
<i>Всего</i>		76	118

Таблица 2 — Общее количество обследованной рыбы

Область	Точка отбора проб	Время отбора проб	Количество рыб/проб	Роста нет	Рост есть	Микробиоценоз
Брянская	Река Десна	30.08.2012	6/12	2/4	4/8	БГКП, <i>Moraxella</i> sp., <i>Acinetobacter baumannii</i>
Белгородская	Старооскольское водохранилище	04.10.2012	18/36	4/8	14/28	<i>Moraxella</i> sp., <i>Citrobacter</i> sp., <i>A. baumannii</i> , <i>A. calcoaceticus</i> , БГКП, аэромонады
		01.07.2013	4/8	—	4/8	БГКП, <i>A. calcoaceticus</i> , <i>Citrobacter</i> sp., аэромонады

Количественный посев воды производили на среды: эритритагар — определение общего микробного числа (ОМЧ), флавобактерий; Эндо — определение энтеробактерий, аэромонад, неферментирующих щелочеобразователей (НФЩ — моракселл и ацинетобактеров); Сабуро — определение грибковой флоры и миксобактерий; энтерококкагар — определение энтерококка; висмутсульфитный агар — определение бактерий тифо-паратифозной группы. На эти же среды делали посев паренхиматозных органов стерильно вскрытой рыбы [1]. Вирулентность выделенных аэромонад определяли по величине зоны деполимеризации дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) на ДНКазном агаре [2]. Идентификацию выделенных бактерий проводили в соответствии с Определителем бактерий Берджи [3].

Результаты исследования

Брянская область по объективным причинам была обследована в 2012 и 2015 гг.

В августе 2012 г. ОМЧ в разных точках варьировало в широких пределах — от 1900 до 9100 КОЕ/мл. Микробиоценоз воды был представлен моракселлами, ацинетобактерами, БГКП, энтерококком. Во всех посевах отмечен рост миксобактерий. Из воды было выделено 12 штаммов аэромонад. Только у одного штамма *A.sp.2* ДНКазная активность была 0 мм. У остальных — 3,0–10,0 мм зоны деполимеризации ДНК, что характеризовало высокий уровень их вирулентности.

У двух рыб из шести рост бактериальной флоры не выявлен. У остальных микробиоценоз был представлен БГКП, моракселлами и ацинетобактером с ростом от умеренного до обильного.

В июне 2015 г. разброс в размерах ОМЧ был еще больше: от 40 КОЕ/мл в точке у плотины оз. Бытошь до 54280 КОЕ/мл и сливного роста в точках рядом и выше г. Добрунь на р. Десна в зоне очистных сооружений. Микробиоценоз был представлен

миксобактериями, ацинетобактером, БГКП с бронзовым блеском, клебсиеллами и авирулентными анаэробными и единичными газообразующими аэромонадами, что свидетельствовало о высоком уровне органического и свежего фекального загрязнения. В точке выше г. Добрунь у биовара А.sp.2 ДНКазная активность была 7,0 мм зоны деполимеризации ДНК.

В июле и октябре ситуация еще больше осложнилась. Река Десна и оз. Бытошь были весьма загрязненными. В июле во всех посевах присутствовали миксобактерии, в пяти — ацинетобактеры и моракселлы. Обнаружение цитробактеров в точках, расположенных выше и ниже г. Брянска, еще раз подчеркивает высокий уровень загрязнения воды коммунальными стоками.

В октябре ОМЧ продолжало оставаться высоким (от 6400 до 21400 КОЕ/мл и сливного роста). Во всех посевах отмечали преобладание БГКП, которые являются антагонистами аэромонад — представителей нормальной микрофлоры водоемов, принимающих активное участие в процессах самоочищения воды. Появление БГКП с бронзовым блеском, энтерококков и цитробактеров свидетельствовало о свежем фекальном загрязнении, изменяло микробиоценоз водоемов и имело не только эпизоотическое значение, вызывая патологические процессы у рыб, но и эпидемиологическое, так как эти возбудители могут вызывать заболевания и у человека [4–8].

Для изучения бактериальных сообществ водоемов Белгородской области пробы воды отбирали из Старооскольского и Белгородского водохранилищ, рек Оскол, Северский Донец и Разумная.

В октябре 2012 г. было исследовано 16 проб воды из рек Оскол и Разумная, Старооскольского и Белгородского водохранилищ, 36 проб паренхиматозных органов от 18 рыб из Старооскольского водохранилища.

ОМЧ воды колебалось от 860 (р. Оскол, 500 м до коллектора) до 2660 КОЕ/мл (500 м ниже коллектора).

В Белгородском водохранилище ОМЧ было от 100 (у плотины) и до 26040 КОЕ/мл (у пос. Разумное).

Микробиоценоз воды был представлен аэромонадами, моракселлами, ацинетобактерами, цитробактером, БГКП, миксобактериями, энтерококком.

Из 36 проб паренхиматозных органов в 14 посевах рост бактериальной флоры не обнаружен, в 13 — рост единичных колоний, в остальных — от умеренного до сливного роста (см. табл. 2).

Из воды и рыбы выделено 37 аэромонад. Из воды Старооскольского водохранилища — 14 (с ДНКазной активностью 1,0–1,5 мм — 8 штаммов, 2,5–3,0 мм — 2 штамма, 4,0 мм — 3 штамма и 7,0 мм — 1 штамм). Из воды Белгородского водохранилища выделено 13 аэромонад (с ДНКазной активностью 0 мм — 1 штамм, 3,5–4,0 мм — 3 штамма, 5,0–9,0 мм — 9 штаммов). Из рыбы Старооскольского водохранилища выделено 10 штаммов аэромонад (с ДНКазной активностью 0–1,0 мм — 2 штамма, 4,0–8,0 мм — 8 штаммов).

В 2013 г. были исследованы 51 проба воды и 8 проб паренхиматозных органов от четырех рыб в июне — июле.

В начале июня ОМЧ воды в разных точках колебалось от 140 до 2500 КОЕ/мл, в конце июня — от 860 до 14400 КОЕ/мл. Микробиоценоз воды в начале июня был представлен БГКП, аэромонадами, цитробактером, моракселлами и ацинетобактерами. В конце июня дополнительно прибавились энтерококки и миксобактерии.

Паренхиматозные органы рыбы, отловленной в это же время, были высоко контаминированы БГКП, энтерококком, ацинетобактером и цитробактером (см. табл. 2).

В июле ОМЧ воды увеличилось с 1000 до 17920 КОЕ/мл и сливного. Во всех посевах преобладали БГКП, моракселлы, ацинетобактеры, миксобактерии, аэромонады и энтерококки. Аэромонады в основном были анаэробные биовары А.sp.5, А.sp.8, А.sp.11, что свидетельствует о высоком органическом загрязнении и наличии коммунально-бытовых стоков.

В мае 2014 г. исследовано 6 проб воды из рек Оскол, Разумная и Северский Донец. ОМЧ колебалось от 60 до 8040 КОЕ/мл

(р. Разумная ниже очистных сооружений). Микробиоценоз был представлен в основном БГКП и аэромонадами.

В 2015 г. были проведены исследования воды в июле, августе и октябре.

В июле ОМЧ колебалось от 260 до 8080 КОЕ/мл. Эпизоотическая ситуация была везде напряженная. Хотя ОМЧ, кроме одной точки, было в пределах нормы, микробиоценоз был представлен БГКП, высоковирулентными аэромонадами (зона деполимеризации ДНК 4,0–6,0 мм), ацинетобактерами, моракселлами, энтерококком и миксобактериями. В августе ситуация ухудшилась из-за увеличения ОМЧ (от 1600 до 10800 КОЕ/мл) и количества точек с повышенным содержанием миксобактерий (в 6 пробах из 9), в остальном микробиоценоз был аналогичным.

В октябре ситуация на водоемах Белгородской области улучшилась. ОМЧ в основном было от 120 до 940 КОЕ/мл. Только в точке ниже г. Старый Оскол (р. Оскол) ОМЧ было 4240 КОЕ/мл. Микробиоценоз был представлен БГКП различной степени активности, авирулентными и слабовирулентными аэромонадами. Выделенные у с. Чернянка (р. Оскол) БГКП с бронзовым блеском и высоковирулентные аэромонады *A. sobria* (зона деполимеризации ДНК — 8,0 мм) создавали напряженность.

Обсуждение результатов

Анализ данных эколого-микробиологического мониторинга показал, что в основном качественный состав микробиоценоза воды естественных водоемов Брянской и Белгородской областей представлен аэромонадами, бактериями группы кишечной палочки разной степени активности, моракселлами, ацинетобактерами, частота выделения которых зависит от степени органического загрязнения водоема, цитробактерами, миксобактериями и энтерококком. Как правило, эти же микроорганизмы выделяются и от рыбы. Микробиоценоз воды изменяется как в зависимости от наличия источников антропогенного загрязнения (близости населенных пунктов, сбросов очистных сооружений, наличия животноводческих комплексов), так и

по сезонам. В летний период увеличивается количество высоковирулентных аэромонад. Весной и поздней осенью они отсутствуют, а преобладают авирулентные или слабовирулентные. Особую опасность для гидробионтов и для человека представляют такие возбудители, как вирулентные аэромонады [1, 5, 7, 8], цитробактеры, энтерококки, моракселлы, ацинетобактеры [6, 8, 9], поэтому всем, работающим на водоемах, необходимо строго соблюдать правила техники безопасности и личной гигиены.

Выводы

1. Микробиоценоз воды естественных водоемов зависит от наличия источников антропогенного загрязнения и сезона года.
2. Неблагоприятные факторы окружающей среды, ухудшающие условия существования микроорганизмов, вызывают усиление их ферментативной активности, повышая в том числе и их вирулентность.
3. Ослабление иммуно-физиологического статуса рыб способствует контаминации их внутренних органов водной микрофлорой, что при ухудшении ситуации может привести к развитию бактериальной геморрагической септицемии.
4. Представители семейства Enterobacteriaceae, такие как цитробактеры, энтеробактеры, клебсиеллы, высоковирулентные аэромонады, моракселлы, ацинетобактеры и энтерококки, могут вызывать заболевания не только у гидробионтов, но и у теплокровных животных, в том числе и у человека.
5. В естественных водоемах, используемых в рекреационных целях, для предупреждения инфекционных заболеваний среди населения (в результате заглатывания воды во время купания) следует постоянно контролировать характер микробиоценоза воды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лабораторный практикум по болезням рыб / В. А. Мусселиус, В. Ф. Ванятинский, А. А. Вихман и др. ; под ред. В. А. Мусселиус. М. : Легкая и пищевая пром-сть, 1983. 296 с.
2. Методические указания по определению патогенности аэромонад по степени ДНКазной

- активности // Сб. инструкций по борьбе с болезнями рыб. Ч. 1. М. : Отдел маркетинга АМБ-агро, 1999. 150 с.
3. Определитель бактерий Берджи : в 2-х т. / пер. с англ. ; под ред. Дж. Хоулта и др. М. : Мир, 1997. 800 с.
 4. Калина Г. П. Микроорганизмы рода *Aeromonas*, патогенность для человека, патогенез и эпидемиология (обзор зарубежной литературы) // ЖМЭИ. 1974. № 10. С. 105–109.
 5. Кампилобактериоз / Н. А. Чайка, Л. Б. Хазенсон, Ж. П. Бутцлер и др. М. : Медицина, 1988. 352 с.
 6. Йоргенсен Дж., Пфаллер М. А. Микробиологический справочник для клиницистов / пер. с англ. М. : Мир, 2006. 243 с.
 7. Юхименко Л. Н. Биологические свойства аэромонад // Молекулярно-клеточные механизмы патогенного и иммуногенного действия *Aeromonas* spp. : сб. науч. тр. российско-китайского семинара. М. : Медицина для всех, 2007. С. 33.
 8. Материалы к изучению роли аэромонад в патологии человека / Л. Н. Юхименко, С. Н. Харитонов, Г. С. Староверова и др. // ЖМЭИ. 1977. № 7. С. 143–145.
 9. Юхименко Л. Н., Бычкова Л. И., Дружинина А. А. Возбудители бактериальной геморрагической септицемии (БГС) рыб, микрофлора воды и комбикормов, имеющая эпидемиологическое значение // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2015. № 26. С. 43–46.

ECOLOGICAL SITUATION IN NATURAL WATER BODIES OF THE BRYANSK AND BELGORODSK REGION

L.N. Yukhimenko*, A.A. Druzhinina*, A.N. Parchukov**

*Russian Research Institute of Freshwater Fisheries, Moscow area, Dmitrov district, p. Rybnoe

**Institute of Biology at the Karelsk Scientific Centre (Russian Academy of Science),
The Republic of Karelia, Petrozavodsk

Analysis results of sampling water and parenchymatous fish organs from natural water bodies of the Bryansk and Belgorodsk areas have been given for 2012 and 2015 years. 84 water samples from 54 points in the Belgorodsk and 34 water from 22 points in the Bryansk areas were analyzed. Total 118 water samples from 76 points and 56 samples of liver and kidneys from 28 fishes (6 fishes from the Bryansk and 22 ones from the Belgorodsk areas) were investigated. A special attention was paid to facultative fishpathogenic bacteria of epizootic and epidemiologic importance. In the Bryansk area the water microbiocenosis of the lake Bytosh and the Desna-river was represented by moraxelles, acinetobacters, bacterif of the intestinal bacilli group (BIBG), enterococcus, mixobacteria. In 2015, BIBG, having bronzed lustre, citrobacters, and high-virulent aeromonades appeared in water sowings. The dispersion of the total microbial number (TMN) ranged from 40 to 54 280 CFU/ml. In the Belgorodsk area, investigations were carried out at the Belgorodsk and Starooskolsk reservoirs, the Oskol-river and Severski Donets-river. TMN in different seasons and years varied between 60 and 26 040 CFU/ml. The microbiocenose of water was represented by aeromonades, moraxelles, acinetobacters, citrobacters, BIBG, mixobacteria, enterococcus. The virulence of the isolated aeromonades varied between 0 mm of the DNA depolymerization zone and 9.0 mm. Growth of the bacterial flora did not revealed in sowings from 4 of 22 fishes analyzed. In spring, moraxelles, citrobacters, acinetobacters, BIBG and aeromonades, and in summer, BIBG, acinetobacters, citrobacters and aeromonades were revealed in other sowings. Enterobacteria, aeromonades, acinetobacters, moraxelles, enterococcus predominated in microbiocenose of water and fishes. The role of the anthropogenic pollution for microbiocenosis alteration has been shown.

Keywords: natural water bodies; microbiocenose of water; microbiocenose of fishes; facultative fishpathogenic bacteria.

REFERENCES

1. Musselius V.A., Vanyatinsky V.F., Wichmann A.A. et al. [Laboratory workshop on fish diseases]; ed. V.A. Musselius, Moscow, 1983. 296 p. (In Russ.)
2. [Guidelines for the determination of pathogenicity for aeromonads degree DNase activity]. Coll. instructions for disease control fish. Part 1. Moscow: Marketing Department AMB-Agro, 1999. 150 p. (In Russ.)
3. [The determinant of bacteria Burgi]. 2 volumes. Transl. from English.; ed. J. Holt et al. Moscow: Mir, 1997. 800 p. (In Russ.)
4. Kalina G.P. [Microorganisms the Aeromonas genus, pathogenicity for humans, the pathogenesis and epidemiology (the review of foreign literature)] ZHMEI. 1974. No 10. P. 105–109. (In Russ.)
5. Chaika N.A., Hazenson L.B., Buttsle J.P. et al. [Campylobacteriosis]. Moscow: Medicine, 1988. 352 p. (In Russ.)
6. Jorgensen J., Pfaller M.A. [Microbiological reference for clinicians]. Transl. from English. Moscow: Mir, 2006. 243 p. (In Russ.)
7. Yukhimenko L.N. [Biological properties aeromonads]. Molecular and cellular mechanisms of pathogenicity and the immunogenic action of Aeromonas spp.: Sat. scientific. tr. Russian-Chinese seminar. Moscow: Medicine for everyone, 2007. P. 33. (In Russ.)
8. Yukhimenko L.N., Kharitonov S.N., Staroverova G.S. et al. [Materials for the study of the role in human pathology aeromonads]. ZHMEI. 1977. No 7. P. 143–145. (In Russ.)
9. Yukhimenko L.N., Bychkova L.I., Druzhinin A. [Pathogens bacterial haemorrhagic septicemia (BGS) fish microflora of water and animal feed, which has epidemiological significance] Far infectious disease journal. 2015. No 26. P. 43–46. (In Russ.)

Об авторах

Юхименко Людмила Николаевна,
кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства» (ФГБНУ «ВНИИПРХ») 141821, Московская обл., Дмитровский р-он, пос. Рыбное
8 (906) 758-38-06; yln1937@mail.ru

Дружинина Алевтина Анатольевна,
старший научный сотрудник
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства» (ФГБНУ «ВНИИПРХ») 141821, Московская обл., Дмитровский р-он, пос. Рыбное
8 (916) 644-63-78; adruzhinina76@mail.ru

Паршуков Алексей Николаевич,
кандидат биологических наук,
научный сотрудник
Институт биологии Карельского научного центра РАН (ИБ КарНЦ РАН)
185910, Республика Карелия, г. Петрозаводск,
ул. Пушкинская, д. 11
(8142) 78-00-59; aleksey.nik.parshukov@gmail.com

About the authors

Yukhimenko Ludmila N.,
Candidate of Biological Sciences, leading scientific worker, senior scientific worker
FGBNU Russian Research Institute of Freshwater Fisheries “VNIIPRKh”
141821, Moscow area, Dmitrov region, p. Rybnoe
8 (906) 758-38-06; yln1937@mail.ru

Druzhinina Alevtina A.,
senior scientific worker
FGBNU Russian Research Institute of Freshwater Fisheries “VNIIPRKh”
141821, Moscow area, Dmitrov region, p. Rybnoe
8 (916) 644-63-78; adruzhinina76@mail.ru

Parshukov Alexei N.,
Candidate of Biological Sciences,
Researcher
Institute of Biology at the Karelsk Scientific Centre (Russian Academy of Science)
185910, Kareliya, Petrozavodsk, Pushkinskaya str., 11
(8142) 78-00-59; aleksey.nik.parshukov@gmail.com