МИКРОФЛОРА ЛЕЩА ABRAMIS BRAMA (LINNAEUS, 1758)
ОЗЕРА ВИШТЫНЕЦКОГО В ЛЕТНИЙ ПЕРИОД 2020 Г.

Я. В. Мирошниченко, магистрант 2-го года,
e-mail: yana.miroshnichenko@klgtu.ru
ФГБОУ ВО «Калининградский государственный
технический университет»

Е. В. Авдеева, канд. биол. наук, проф.,
e-mail: elena.avdeeva@klgtu.ru
ФГБОУ ВО «Калининградский государственный
технический университет»

С целью изучения микрофлоры леща оз. Виштынецкого, исследованием которого ранее никто не занимался, произведен микробиологический анализ его кожи, жабр и внутренних органов. Обнаружено доминирование в бактериоценозе леща оз. Виштынецкого бактерий рода *Bacillus*. Результаты наших исследований были сравнены с данными по микрофлоре леща Куршского залива, полученными сотрудником АтлантНИРО Н. Н. Чукаловой – выявлены различия в видовом и количественном составе бактерий изучаемых водоемов и количестве представителей условно-патогенной микрофлоры.

Ключевые слова: лещ, микрофлора, бактерии, среда обитания, оз. Виштынецкое, водоем, патогенность, промысловые рыбы

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире, сильно подверженном негативному антропогенному воздействию, эпидемиологическое благополучие населения сильно зависит от санитарного состояния водоемов, как основных поставщиков пищевого сырья и питьевой воды. Его индикаторами служат группы условно-патогенных бактерий, количество которых тесно коррелирует с загрязненностью водоема, общим уровнем сапрофитов и содержанием органических веществ в воде. Именно поэтому проведение микробиологических исследований с целью установления этиологии кожных поражений и факторов, способствующих их проявлению является важным звеном при проведении не только ихтиопатологического мониторинга заболеваемости рыб, но и ихтиологических и экологических исследований в водоемах Калининградской области.

Лещ *Abramis brama* (Linnaeus, 1758) – пресноводная и полупроходная теплолюбивая рыба семейства Cyprinidae отряда Cypriniformes. Их представители обитают стаями в медленно текущих реках, низменных озерах с песчано-илистым и глинистым дном, встречаются в солоноватых заливах. Они предпочитают придерживаться глубоководных участков и располагающихся у крутых берегов ям, питаются путем всасывания донных организмов. Ареал обитания леща имеет широкое географическое распространение от Белого до южных морей Европы, в Калининградской области и Литве встречается повсеместно, включая маленькие озера и прибрежную часть моря [1–8].

Лещ играет важную роль в трофических цепях как бентофаг и часть пищевого рациона хищных рыб вроде судака и щуки. Является объектом промысла благодаря своим высоким пищевым качествам и относительно невысокой цене – его мясо содержит высококачественный белок, богато аминокислотами, жирами, витаминами и минеральными элементами. По данным ФАО [9], глобальный вылов леща в 2016 г. составил 48 438 т. На прилавках его можно найти в свежем или замороженном виде, а по способу приготовления различают жареного, запечённого и приготовленного на пару.

В водоемах Калининградской области его микробиоценоз изучен пока слабо – Е. В. Авдеева, О. В. Казимирченко, Н. Н. Чукалова и другие исследователи занимались определением количественного и видового состава микробиоценоза изучаемого объекта в Куршском, Вислинском заливах и некоторых водоемах Калининградской области. Авторами были выделены инвазионные представители, отмечена сезонная динамика бактериальной обсемененности и определены факторы, влияющие на качественный и количественный состав микрофлоры леща [10–12]. В Виштынецком озере таких исследований ранее не проводилось. По этой причине исследование микрофлоры леща озера Виштынецкого с целью определения видового состава, его патогенности и роли в возникновении бактериальных заболеваний для предупреждения их распространения является актуальной задачей.

ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования является микробиоценоз кожи, жабр и внутренних органов леща, пойманного в Виштынецком озере летом 2020 г.

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель работы – изучение обсемененности бактериями леща оз. Виштынецкого по индикаторным группам бактерий и сравнение полученных результатов с литературными данными о микробиоценозе леща из других водоемов Калининградской области.

Для достижения поставленной цели были выделены следующие задачи:

- исследование видового состава микробиоценоза леща оз. Виштынецкого;
- изучение обсемененности внутренних органов данного объекта;
- сравнение микрофлоры леща из оз. Виштынецкого и водоемов Калининградской области и обнаружение в ней условно-патогенных бактерий, которые могли бы вызвать бактериальные заболевания у рыб.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническому осмотру и полному бактериологическому исследованию с изучением видового состава бактерий всех внутренних органов и тканей рыбы было подвержено 12 экз. леща. Отбор пробы произведен сотрудниками кафедры ихтиологии и экологии в июле 2020 г. из оз. Виштынецкого. Обработка материала проведена с использованием стандартных методик в ихтиопатологической лаборатории ФГБОУ ВО «КГТУ». Из микрофлоры леща было выделено 15 штаммов бактерий. Перед бактериологическим исследованием рыбу взвешивали на электронных весах, измеряли длину (зоологическую и промысловую).

Первичный бактериологический посев патологического материала проводили при помощи препаровальных игл, скальпеля, ножниц, пинцетов, чашек Петри, горелки и шпателя Дригальского. Материал для бактериологического посева (кусочек прижжённого исследуемого органа) отбирали с помощью стерильных инструментов, помещали в чашки Петри на рыбопептонный агар, растирали по поверхности шпателем и далее инкубировали в термостате при 37 °C [13].

Для идентификации бактерий выделяли их чистые культуры – после появления обильного роста на чашках Петри, описывали культуральные признаки каждой колонии, которые перерассеивали на скошенные агары и инкубировали в термостате при 37 °C. Далее

изучали морфологические и биохимические признаки бактерий, проводили окраску по Граму [13].

После получения чистых колоний бактерий проводили ряд тестов на 15 различных по химическому составу дифференциально-диагностических средах для определения отношения выделенных бактерий к кислороду, выявления их подвижности, способности разложения углеводов в аэробных и анаэробных условиях до смеси кислот и газа, ферментации сахаров, образования сероводорода, редукции нитратов и другие [13]. На основании полученных после проведения тестов результатов, колонии бактерий определяли до вида с помощью определителей Берджи [14–15].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Было проведено патолого–анатомическое и микробиологическое исследование леща из оз. Виштынецкого, при котором не было выявлено патологических изменений.

Нами изучена обсемененность кожи, жабр и внутренних органов леща путем выделения чистых культур бактерий и проведения ряда тестов. В микрофлоре леща из оз. Виштынецкого обнаружены 15 видов бактерий родов *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Corynebacterium*, *Veillonella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* (табл. 1). Присутствовали сапрофитные бактерии, санитарно-показательная бактерия группы кишечных палочек, представители нормальной микрофлоры рыб и условно-патогенные бактерий – 73,3 % обнаруженных видов являлись представителями нормальной микрофлоры рыб, 26,7 % микробного пейзажа органов составили условно-патогенные виды бактерий, в их числе одна санитарно-показательная бактерия группы кишечных палочек *Enterobacter nimipressuralis*.

Таблица 1 – Определенные в составе микрофлоры леща виды бактерий и их локализация

№ п/п	Вид	Органы локализации
1	<i>Bacillus brevis</i>	Все органы, кожа и жабры
2	<i>Bacillus alvei</i>	Все органы, кожа и жабры
3	<i>Bacillus circulans</i>	Кожа, кишечник, жабры, печень, сердце, желчный пузырь, почки, селезенка
4	<i>Bacillus coagulans</i>	Кишечник, жабры, кожа, почки, селезенка, сердце, желчный пузырь, почки,
5	<i>Bacillus badis</i>	Кишечник, жабры, желчный пузырь, почки, селезенка
6	<i>Veillonella caviae</i>	Кишечник, жабры, желчный пузырь, почки, селезенка
7	<i>Corynebacterium bovis</i>	Кишечник, желчный пузырь, печень, селезенка
8	<i>Alcaligenes latus</i>	Желчный пузырь, почки, селезенка, сердце
9	<i>Bacillus megaterium</i>	Желчный пузырь, почки, печень, селезенка
10	<i>Bacillus firmus</i>	Желчный пузырь, почки, печень, селезенка
11	<i>Pseudomonas putrefaciens</i>	Желчный пузырь, сердце
12	<i>Enterobacter nimipressuralis</i>	Почки, печень, селезенка, сердце
13	<i>Bacillus subtilis</i>	Печень
14	<i>Bacillus anthracis</i>	Печень
15	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Селезенка, сердце

Бактериоценоз леща в оз. Виштынецком был сформирован в основном представителями рода *Bacillus* (9 видов, 60 %). Они входят в состав нормальной микрофлоры рыб, обсеменяли кожу, жабры и все внутренние органы, и попали в них из воды. В формировании состава бактериоценоза леща участвуют представители сапрофитной микрофлоры, которые могли попасть в бактериоценоз особей из воды и почвы – желчный пузырь, почки, селезенка и сердце были обсеменены бактерией *Alcaligenes latus*, в селезенке и сердце обнаружена *Acinetobacter lwoffii*. В микрофлоре внутренних органов

присутствовали условно-патогенные для рыб бактерии родов *Corynebacterium*, *Veillonella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, которые в неблагоприятных условиях могут спровоцировать вспышку бактериальных заболеваний у рыб, а при их употреблении без должной обработки – у животных и человека. Условно-патогенные бактерии *Corynebacterium bovis* обнаруживались на слизистых оболочках или кожных покровах животных. *Veillonella caviae* могут быть обнаружены в ротовой полости, кишечнике и дыхательных путях человека и животных, они опасны из-за способности вызывать у них инфекционные заболевания. Условно-патогенная бактерия *Pseudomonas putrefaciens* способна вызвать бактериальную инфекцию, проявляющуюся в виде язв на коже ослабленных особей. *Enterobacter nimipressuralis* относится к бактериям группы кишечных палочек, которые являются санитарно-показательными микроорганизмами – ее обнаружение в микробиоценозе леща свидетельствует о бактериологическом загрязнении воды в оз. Виштынецком.

Наибольшей обсемененностью бактериями и разнообразием их видового состава обладала селезенка и желчный пузырь, в которых было обнаружено 12 (80 %) и 11 (73 %) видов бактерий соответственно. Менее всего была обсеменена кожа – на ней было найдено четыре вида бактерий, что составило 27 % от всего полученного видового состава (рисунок).

Рисунок – Обсемененность исследуемых органов по видовому составу

Также нами проведено сравнение с данными исследований микрофлоры леща Куршского залива, полученными сотрудником АтлантНиро Н. Н. Чукаловой [11]. Ею были выделены в микробиоценозе рыбы сапрофитные бактерии, бактерии группы кишечных палочек и условно-патогенные.

Микрофлора леща Куршского залива (по данным исследований Чукаловой Н.Н. [14]) была представлена 31 видом бактерий, принадлежащих к 14 родам. Среди исследуемых органов наибольшим разнородным составом обладал кишечник (23 вида, 74,2 %), меньшее количество видов было обнаружено в коже (18 видов, 58,1 %) и жабрах (17 видов, 54,8 %), менее всего различными видами бактерий были обсеменены кожные язвы, кровь, печень, почки и селезенка леща с язвенным заболеванием (7 видов, 22,6 %). Летом наиболее часто встречались бактерии рода *Staphylococcus* и *Aeromonas* (по 16,7%), *Pseudomonas*, *Micrococcus* и *Bacillus* встречались в 12,5 % случаев каждая, *Enterobacter* и *Proteus* заняли по 8,3 % от общего числа обнаруженных бактерий. Преобладали условно-патогенные виды, которых было обнаружено 20 видов (64,5 %), из них семь видов (22,6 %) являются санитарно-показательными микроорганизмами группы кишечных палочек (БГКП) – полученные данные свидетельствуют о сильном микробном загрязнении Куршского залива.

При сравнении микрофлоры леща из Виштынецкого озера и Куршского залива выявлены отличия в общем количестве видов и их видовом составе, количестве представителей нормальной микрофлоры и условно-патогенных микроорганизмов, доминирующих группах обнаруженных бактерий (табл. 2).

Таблица 2 – Сравнение данных по микрофлоре леща, выделенной из Виштынецкого озера и Куршского залива

Показатель, ед. измерения	Виштынецкое озеро	Куршский залив [11]
Общее количество видов, шт.	15	31
Количество видов представителей нормальной микрофлоры, шт./%	14 / 73,3	11 / 35,5
Количество условно-патогенных видов бактерий, шт./%	4 / 26,7	20 / 64,5
Количество санитарно-показательных видов, БГКП, шт./%	1 / 6,7	7 / 22,6
Доминирующая группа бактерий, шт./%	Bacillus (нормальная микрофлора) 9 / 60	Staphylococcus (условно-патогенная микрофлора) 5 / 20,8

Сравнение микрофлоры леща из оз. Виштынецкого и Куршского залива показало, что бактериоценоз леща в Виштынецком озере представлен вдвое меньшим (48,4 %) видовым составом, на 40,0 % меньшим количеством условно-патогенных и на 14,3 % санитарно-показательных видов бактерий, а также отличительной особенностью Виштынецкого озера является преобладание бактерий рода *Bacillus* среди представителей бактерий нормальной микрофлоры.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, согласно полученным в результате исследования кожи, жабр и внутренних органов леща оз. Виштынецкого данным, в микробиоценозе присутствовали сапрофитные бактерии, санитарно-показательная бактерия группы кишечных палочек, представители нормальной микрофлоры рыб и условно-патогенные бактерий – 73,3 % обнаруженных видов являлись представителями нормальной микрофлоры рыб, 60 % принадлежали роду *Bacillus*. Как показало сравнение наших результатов с литературными данными, преобладание рода *Bacillus* является отличительной особенностью оз. Виштынецкого от других водоемов Калининградской области.

Видовой состав бактерий из микрофлоры леща оз. Виштынецкого оказался менее богатым и разнообразным на виды относительно Куршского залива, где обитает исследуемая рыба. Также было обнаружено меньшее, чем в Куршском заливе, количество представителей условно-патогенной микрофлоры и санитарно-показательных микроорганизмов БГКП, что свидетельствует о большем санитарно-эпидемиологическом благополучии исследуемого нами водоема.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Семейство карповые [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://ecodelo.org> (дата обращения 14.05.2020)
2. Жизнь животных: в 6-ти т. / под ред. Т. С. Рассе – Москва: Просвещение, 1971. – Т. 4, ч. 1. Рыбы. – 655 с.
3. Тылик, К. В. Рыбы трансграничных водоемов России и Литвы / К. В. Тылик. – Калининград: ФГОУ ВПО «КГТУ», 2007. – 128 с.
4. Биотехнический и производственный потенциал пастбищной аквакультуры на трансграничных водоемах России и Литвы: монография / Е. И. Хрусталева [и др.]. – Калининград: Изд-во «ИП Мишуткина И. В.», 2009. – 198 с.
5. Аполлова, Т. А. Практикум по ихтиологии: учеб. пособие / Т. А. Аполлова, Л. Л. Мухордова, К. В. Тылик. – Москва: МОРКНИГА, 2013. – 338 с.
6. Кокуричева, М. П. Основные объекты товарного рыбоводства: методические указания для студентов зооинженерного факультета по направлению подготовки 111100.62, 111100.65 / М. П. Кокуричева. – Санкт-Петербург: СПб ГАУ, 2013. – 64 с.

7. Иванов, А. П. Рыбоводство в естественных водоемах / А. П. Иванов. – Москва: Агропромиздат, 1988. – 367 с.
8. Никольский, Г. В. Частная ихтиология / Г. В. Никольский. – Москва: Советская наука, 1950. – 436 с.
9. Статистические данные по вылову леща [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.fao.org/fishery/species/2153/en> (дата обращения 14.05.2020)
10. Каримова, Я. Р. Условно-патогенная бактериофлора леща (*Abramis brama* L.), воды и грунтов Куршского залива / О. В. Казимирченко, Я. Р. Каримова // Водные биоресурсы, аквакультура и экология водоёмов: вторая науч.-практ. конф., 15–16 октября 2014 г.: труды. – Калининград: Изд-во ФГБОУ ВПО «КГТУ», 2014. – С. 109–112.
11. Чукалова, Н. Н. Экологические факторы, обуславливающие эпизоотическое состояние леща (*Abramis brama* L.) в Куршском заливе Балтийского моря: дисс.... канд. биол. наук: 03.00.16 / Чукалова Наталия Николаевна; ФГБОУ ВПО «КГТУ». – Калининград, 2008. – 142 с.
12. Ларцева, Л. В. Микрофлора рыб и других гидробионтов / Л. В. Ларцева, О. В. Обухова, И. А. Лисицкая. – Астрахань: Издательский дом «Астраханский университет», 2008. – 107 с.
13. Авдеева, Е. В. Методы диагностики болезней рыб: учеб. пособие: в 2 ч. / Е. В. Авдеева, О. В. Казимирченко, М. Ю. Котлярчук. – Калининград: ФГОУ ВПО «КГТУ», 2010. – Ч. 1. Диагностика инфекционных болезней рыб. – 110 с.
14. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. / под ред. Дж. Хоулта. – Москва: Мир, 1997. – Т. 2. – 325 с.
15. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. / под ред. Дж. Хоулта. – Москва: Мир, 1997. – Т. 1. – 432 с.

MICROFLORA OF BREAM *ABRAMIS BRAMA* (LINNAEUS, 1758) OF VISHTYNETSKY LAKE FOR SUMMER PERIOD 2020

Ya. V. Miroshnichenko, 2-year master student
e-mail: yana.miroshnichenko@klgtu.ru
Kaliningrad State Technical University

E. V. Avdeeva, PhD, Professor
e-mail: elena.avdeeva@klgtu.ru
Kaliningrad State Technical University

In order to study the microflora of the bream of Lake Vishtynetskoye, which no one had previously studied, a microbiological analysis of its skin, gills and internal organs was carried out. Dominance in the bacteriocenosis of the bream of Lake Vishtynetsky genus of bacteria *Bacillus* was found. The results of our research were compared with the data on the microflora of the Curonian Lagoon bream obtained by N. N. Chukalova, an employee of AtlantNIRO – differences in the species and quantitative composition of bacteria in the studied reservoirs and the number of representatives of conditionally pathogenic microflora were revealed.

Key words: *bream, microflora, bacteria, habitat, water body, pathogenicity, commercial fish*