

УДК 547.9+591.5+581.524.1+582.26/27+632.9

Є.Б. ГОЛЬДІН

Південна філія Національного університету біоресурсів і природокористування України «Кримський агротехнологічний університет»
Аграрне, Сімферополь 95492, АР Крим, Україна

ЕКСПРЕС-ТЕСТУВАННЯ ЯК ІНСТРУМЕНТ ВИЗНАЧЕННЯ БІОЦИДНОЇ АКТИВНОСТІ ЦІАНОБАКТЕРІЙ

Для тестування лабораторної культури ціанобактерії *Microcystis aeruginosa* на біоцидні властивості в різних варіантах були використані мухи-дрозофіли. Встановлено, що застосовані методи дозволяють швидко одержувати та аналізувати інформацію про біологічну активність ціанобактерій.

Ключові слова: ціанобактерії, членистоногі, міжвидові взаємовідносини, біоцидна дія

Постійне зростання інтересу до біоцидних властивостей ціанобактерій та їх значення в міжвидових взаємовідносинах з організмами різного еволюційного рівня в водних та наземних екосистемах [5, 9] обумовлює необхідність розроблення спеціальних методів, що дозволяють відносно швидко оцінити рівень активності культур або природних ізолятів [1]. Тому наша увага була спрямована на виявлення особливостей різноманітних форм взаємодії ціанобактерій з членистоногими, включаючи трофічні, антагоністичні та репелентні зв'язки, які мають вплив на різні життєві функції мешканців біотопів [6]. У свою чергу, значний обсяг запроваджених раніше скринінгових досліджень еколого-біохімічної природи космополітного виду *Microcystis aeruginosa* Kütz. emend. Elenk. та практичний досвід в цій галузі визначив формування головних принципів та напрямків проведення експериментальних робіт [8].

Матеріал і методи досліджень

Розроблена тест-система має такі складові:

1. Одночасне застосування стаціонарного вирощування ціанобактерій на люменостаті та інтенсивного їх культивування з регульованим поданням CO₂ та біогенних елементів для одержання первинної інформації про умови прояву найбільшої активності.
2. Тестування культур, вирощених на середовищах, які різною мірою були забезпечені джерелами азоту та фосфору: а) норма; б) подвійний вміст азоту (+N); в) ліміт по азоту – вміст удвічі нижчий за норму (-N); г) подвійний вміст фосфору (+P); д) ліміт по фосфору (-P); е) подвійний вміст азоту і ліміт по фосфору (+N; -P); ж) подвійний вміст фосфору і ліміт по азоту (+P; -N). Ці культури використовували для тестування з інтервалом в 10 діб протягом двох місяців.
3. Використання лабораторної популяції мухи-дрозофіли *Drosophila melanogaster* Meigen (дикий тип) як тест-об'єкту, що забезпечує швидке отримання показників антифідантного, ентомоцидного, метатоксичного та інших проявів.
4. Проведення комплексних досліджень, спрямованих на одержання щоденної повної інформації про стан тест-об'єкту, насамперед харчування, ростові процеси, метаморфоз та смертність [4].
5. Проведення паралельних досліджень з метою виявлення зв'язку між біоцидною активністю культур ціанобактерій, їх віком, кількістю клітин, складом середовища та вмістом ліпідів і терпенових сполук [7].

Під час експериментів використовували альгологічно чисту культуру *M. aeruginosa*, люб'язно надану нам з колекції Інституту гідробіології НАН України, яку вирощували на середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера и Горхема (№ 11) [10] в колбах Ерленмейера (V=1,0 л), розміщених в люменостаті з безперервним освітленням лампами ЛБ-80 (3000 лк) при температурі 25–30°C впродовж 60 діб. Кількість клітин визначали прямим підрахунком в камері Горяєва. Експрес-тестування біоцидної активності ціанобактерій на мухах-дрозофілах проводили додаванням культур з різним вмістом сполук N і P (2 мл) (в контрольному варіанті – 2 мл середовища № 11) до агаризованого поживного середовища для комах (8 мл). В подальшому дрозозфіли (групи з чотирьох самців та чотирьох самок в кожній за трьох повторностей в усіх варіантах дослідів) висаджували на поверхню середовища.

Кількісний та якісний вміст терпенових сполук визначали методом газо-рідинної хроматографії, а ліпідну фракцію вилучали хлороформ-метанольною екстракцією за Фолчем [3].

Результати досліджень та їх обговорення

Аналіз показників експериментів свідчить про інгібування життєвих функцій комах (живлення, ріст та метаморфоз, а у загальному підсумку – загибель значної частини дрозофіл у відносно стислі строки (5–7 діб) в усіх варіантах дослідів. Біологічна активність ціанобактерій послідовно збільшувалася в залежності від віку культур та досягала максимальних показників на 30-у добу культивування, коли смертність комах в різних варіантах коливалась від 16 до 21 особини з 24-х (табл. 1).

Таблиця 1

Смертність комах від культур *M. aeruginosa*

Варіанти	Вік культур <i>M. aeruginosa</i>		
	10 діб	20 діб	30 діб
Норма	14	17	19
- N	3	18	17
+ N	8	11	16
- P	19	11	18
+ P	14	10	21
- P; + N	16	15	21
+ P; - N	15	16	21
Контроль (середовище № 11)	2	4	3

Примітка: В кожному варіанті було 24 мухи-дорозофіли; смертність комах підраховували протягом 7 діб.

Далі поступово відбувалося зменшення біоцидності, включаючи культури, які росли потягом 40–60 діб. Наприклад, показники летальності в 10-ти і 60-ти добових культурах були аналогічними. Порівняння динаміки біоцидності ціанобактерій, які мають різний ступінь забезпечення джерелами N і P, дозволяє стверджувати, що одночасна взаємна зміна концентрації біогенних компонентів у середовищі має вплив на підвищення біологічної активності культур (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив культур *M. aeruginosa* на метаморфоз комах (лялькування в %)

Варіанти	Вік культур <i>M. aeruginosa</i>	
	20 діб	30 діб
Норма	53,2	62,2
- N	47,2	92,0
+ N	60,8	67,6
- P	73,8	86,5
+ P	67,0	58,7
- P; + N	77,6	55,4
+ P; - N	37,5	56,8
Контроль: середовище № 11	100,0*	100,0

Примітка: Тривалість дослідів складала 7 діб; в кожному варіанті було 24 мухи-дорозофіли.

Впливає на смертність комах також лімітування ціанобактерій по азоту та фосфору (табл. 1).

Визначення густини культур протягом всього дослідження не дає підстав для констатації наявності безпосередньої залежності між кількістю клітин в 1 мл середовища і біологічною активністю, проте густина в варіантах з інгібуючим ефектом повинна бути нижчою $0,6 \cdot 10^6$ кл/мл [2]. Слід зазначити, що ці висновки стосуються тих видів ціанобактерій, які в нативному стані виявляють біоцидну дію на комах.

Існує певний взаємозв'язок між вмістом терпенових сполук в культурі і біоцидними властивостями. Так, в найактивніших варіантах (зокрема, в культурі з подвійним вмістом N та лімітованої по P) вміст терпенової фракції послідовно підвищується на 10–30-ту добу росту ($1,8 \cdot 10^4$ – $3,9 \cdot 10^4$ %). Одночасно спостерігається зростання антибактеріальних [2] і ентомоцидних показників (табл. 3).

Біологічно активні речовини і смертність комак

Фракції і сполуки	Вік культур <i>M. Aeruginosa</i>			
	10 діб	20 діб	30 діб	40 діб
Вміст ліпідів в культурі, %	1,0	1,08	1,29	1,69
Вміст терпенів в культурі, %	0,00021	0,00021	0,00024	0,00016
Цитронелол, % у фракції	8,59	9,35	–	–
Нерол, % у фракції	4,79	3,77	3,8	10,7
Гераніол, % у фракції	3,64	–	–	3,58
β-фенілетиловий спирт, % у фракції	10,3	8,16	10,2	34,9
Евгенол, % у фракції	64,42	78,72	71,7	50,81
Смертність комак, особини	14	17	21	19

Примітка: в кожному варіанті було 24 мухи-дрософіли.

Висновки

При визначенні біоцидного ефекту ціанобактерій в скринінгових дослідженнях мухи-дрософіли можуть бути експрес-тестом, який дозволяє швидко одержувати інформацію, оцінювати кількісний та якісний бік біологічної активності і здійснювати аналіз даних.

1. Гольдин Е.Б. Экспресс-тесты в определении биологической активности цианобактерий / Е.Б. Гольдин // Автотрофные микроорганизмы. – М.: МАКС Пресс, 2000. – С. 54–55.
2. Гольдин Е.Б. Антибактериальная активность альгологически чистых культур цианобактерий и микроводорослей / Е.Б. Гольдин // Микробиол. журн. – 2003. – Т. 65, № 4. – С. 68–76.
3. Гольдин Е.Б. Терпены природного происхождения и проблемы защиты растений / Е.Б. Гольдин, В.Г. Гольдина // С.-х. науки: Науч. тр. Крым. гос. агр. ун-та. – 2004. – Вып. 76. – С. 174–178.
4. Приставка В.П. Принципы и методы экспериментальной энтомологии // В.П. Приставка. – Минск: Наука и техника, 1979. – 136 с.
5. Сиренко Л.А. Биологически активные вещества водорослей и качество воды / Сиренко Л.А., Козицкая В.Н. – К.: Наук. думка, 1988. – 256 с.
6. Gol'din E.B. The blue-green algae as the producers of the natural pesticides / Gol'din E.B., Sirenko L.A. // Альгология. – 1998. – Т. 8, № 1. – С. 93–104.
7. Gol'din E.B. Insecticidal activity of harmful cyanobacteria: the role of terpene substances / Gol'din E.B., Gol'dina V.G. // Harmful Algal Blooms 2000. – IOC of UNESCO, Paris. – P. 403–406.
8. Gol'din E.B. Cyanobacteria: Biocidal Activity and Human Affairs / E.B. Gol'din // Proc. 8th Internat. Conf. MEDCOAST 07. – MEDCOAST, Middle East Technical University, Ankara, Turkey, 2007. – Vol. 2. – P. 937-946.
9. Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring, and Management / Eds. I. Chorus, J. Bartram. – London-New York: World Health Organization, E.&F.N. Spon, 1999. – 416 p.
10. Zehnder A.A. Factor influencing the growth of *Microcystis aeruginosa* Kütz. emend. Elenk. / Zehnder A.A., Gorham P.R. // Can. J. Microbiol. – 1960. – Vol. 6. – P. 645–660.

Е.Б. Гольдин

Южный филиал Национального университета биоресурсов и природопользования Украины «Крымский агротехнологический университет»

ЭКСПРЕСС-ТЕСТИРОВАНИЕ КАК ИНСТРУМЕНТ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Для тестирования лабораторной культуры цианобактерии *Microcystis aeruginosa* на биоцидные свойства в различных вариантах были использованы мухи-дрософилы. Установлено, что примененные методы позволяют быстро получать и анализировать информацию о биологической активности цианобактерий.

Ключевые слова: цианобактерии, членистоногие, межвидовые взаимоотношения, биоцидное действие

E.B. Goldin

South branch of the National university of bioresources of Ukraine the «Crimean agrarian technology university»
EXPRESS-TESTING AS INSTRUMENT OF DETERMINATION OF MICROBIAL-RESISTANT
ACTIVITY OF CYANOBACTERIAS

Fruit flies were used for the testing of biocidal characteristics of the different variants of laboratory culture *Microcystis aeruginosa*. The applied methods make possible short-term obtaining and analysis of information concerning cyanobacterial biological activity.

Key words: cyanobacterias, arthropods, interspecific mutual relations, microbial-resistant action

УДК 594.4(282.274.314)

Н. І. ГОНЧАРЕНКО¹, М. Ю. ЄВТУШЕНКО², О. І. ХУДИЙ³

¹Інститут гідробіології НАН України
пр-т Героїв Сталінграда, 12, Київ 04210

²Національний університет біоресурсів та природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, Київ 03041

³Чернівецький національний університет ім. Юрія Федьковича
вул. Л. Українки, 25, Чернівці 58012, Україна

ЩОДО ПРОБЛЕМИ ЗАГИБЕЛІ РИБ У ДНІСТРОВСЬКОМУ ВОДОСХОВИЩІ

Розглянуто проблему загибелі риб у Дністровському водосховищі. Обговорені можливі шляхи її дослідження.

Ключові слова: Дністер, водосховище, загибель риб, товстолобик

Сучасний етап функціонування природних водних екосистем позначений зростанням водоспоживання, забруднення та відбувається в умовах роботи гідроенергоспруд. При цьому іноді виникають ситуації, що супроводжуються загибеллю риб. У 1996 р. на Кременчуцькому водосховищі промислові стада товстолобиків вийшли з стану зимового спокою і двічі (лютий та початок березня) підійшли до працюючих турбін електростанції, що заподіяло значні збитки рибному господарству [4, 7]. Подібне явище спостерігалось в останні роки також на Дністровському водосховищі.

“Беззахисну рибу перемелюють агрегати Дністровської ГЕС” – таку назву мала підбірка матеріалів, надрукованих у вересні 2009 р. в газеті «Молодий буковинець», в якій привертала увагу наукового та громадського загалу до питань масової загибелі товстолобиків у турбінах гідровузла [5].

У зв'язку з піднятою проблемою метою статті стало визначення найбільш важливих напрямів досліджень для з'ясування причин та запобігання загибелі риб у Дністровському водосховищі.

Матеріал і методи досліджень

Проаналізовано власні та літературні дані щодо особливостей формування іхтіофауни Дністровського водосховища та впливу на рибне населення водойми режиму роботи гідроелектростанції.

Результати досліджень та їх обговорення

Дністровське водосховище створене у 1987 р. на середній ділянці Дністра для регуляції стоку води (протиаводкові заходи) у басейні річки, водопостачання, зрошення та вироблення електроенергії. Рибогосподарське значення водойми має підпорядкований характер. Водосховище розташоване на території Чернівецької, Хмельницької, Вінницької та Тернопільської областей, має довжину 204 км, ширину 0,72 км, площу водного дзеркала 142 км². Максимальні глибини сягають 55 м. Вершина водосховища залишається відкритою і зберігає зв'язок з верхів'ям Дністра, нижня частина водойми перекрита греблею Дністровської ГЕС. Особливістю водосховища є каньйоподібне ложе, з чим пов'язана чітка температурна та киснева стратифікація води. Скид води у нижній б'єф здійснюється з низькотемпературних глибинних шарів, рибозахисні споруди відсутні [1-3, 6, 8].