

УДК 639.3:619:614.48

ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ ВОДЫ ПРИ ДЕЗИНФЕКЦИИ В ИНДУСТРИАЛЬНЫХ ФОРЕЛЕВЫХ ХОЗЯЙСТВАХ УКРАИНЫ С ЗАМКНУТЫМ ВОДОСНАБЖЕНИЕМ**Гриневич Н.Е., Головаха В.И., Слюсаренко А.А.**

Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Украина

*В сравнительном аспекте изучено изменение микрофлоры воды при разных способах ее дезинфекции при замкнутом водоснабжении. Установлено, что обеззараживание воды в УЗВ ультрафиолетовой бактерицидной лампой мощностью 30 Вт и длиной волны 254 нм, на высоте не более 5 см над водой обеспечивает сохранение полезной микрофлоры наполнителя реактора биофильтра. Способ дезинфекции воды ультрафиолетом при замкнутом водоснабжении в промышленных форелевых хозяйствах Украины позволяет продезинфицировать воду не вызывая нарушения микробиоценоза биоаппарата реактора биофильтра, и уменьшить гибель рыбы. **Ключевые слова:** радужная форель, установки замкнутого водоснабжения, мезофильные аэробные и факультативно анаэробные микроорганизмы, бактерии группы кишечной палочки, нитрифицирующие бактерии, вода, бактерицидная лампа, хлорамин.*

CHANGES OF THE MICROFLORA OF THE WATER IN DISINFECTION IN THE INDUSTRIAL TROUT FARMS OF UKRAINE WITH A CLOSED WATER SUPPLY**Grinevich N.E., Golovakha, V.I., Slyusarenko A.A.**

Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine

*In a comparative perspective investigated the changes of the microflora of water different methods of disinfection in a closed water supply. Found that water disinfection in RAS ultraviolet bactericidal lamp with 30 watts a wavelength of 254 nm., at a height of not more than 5 sm above the water maintains the beneficial microflora of the filler of the reactor biofilter. Method of disinfection of water with ultraviolet light in a confined water in the industrial trout farms of Ukraine allows to disinfect water without causing violations of microbiocenosis biofilter reactor biofilter, thereby to reduce the death of fish. **Key words:** rainbow trout, recirculation aquaculture systems, aerobic mesophilic and optionally anaerobic microorganisms, coliform bacteria, nitrifying bacterium, water, bactericidal lamp, chloramine.*

Введение. Установки замкнутого водоснабжения (УЗВ) как высшая форма промышленного рыбоводства позволяют человеку осуществлять максимальный контроль над условиями выращивания рыбы. Несмотря на относительную дороговизну и техническую сложность, УЗВ являются достаточно популярными в использовании и распространены в промышленном форелеводстве. Выращивание форели в УЗВ дает возможность получать готовую продукцию в 2 раза быстрее (до 12 мес.), чем при выращивании ее в прудах, а также снизить до минимума отход рыбы за период выращивания [8]. Этого процесса при эффективном ведении форелеводства можно достичь только поддержанием на должном уровне санитарного состояния и регулярном проведении профилактических мероприятий, в частности дезинфекции.

Однако в форелевых хозяйствах при использовании УЗВ проведение дезинфекции является проблематичным из-за возможности нанести вред полезным микроорганизмам, которые находятся в биоаппарате реактора биофильтра.

Ведь именно «сердцем» УЗВ считают их биологическую очистку при помощи биофильтра [1, 2]. Поскольку в процессе роста и развития рыбы продуцируется значительное количество свободного токсичного аммиака, который в дальнейшем нитрифицируется к еще более токсичным нитратам. Отравление радужной форели нитратами возникает при их концентрации в воде более 2 мг/дм³ [3, 4]. Это в основном происходит из-за неэффективной работы биоаппарата реактора биофильтра. Поэтому от активности нитрифицирующих и денитрифицирующих микроорганизмов, которые находятся в биофильтре УЗВ, будет зависеть возникновение нитратного отравления рыбы. Особенно негативно влияют на микробиоценоз биофильтра УЗВ дезинфицирующие и противомикробные препараты, которые используют для дезинфекции воды и лечения рыбы. После их применения количество нитрифицирующих микроорганизмов резко уменьшается в воде биофильтра, и, как следствие, снижаются нитрифицирующие процессы и нарастает количество нитритов.

Поэтому изучение влияния способа дезинфекции воды при замкнутом водоснабжении в промышленных форелевых хозяйствах Украины на состояние микробиоценоза биоаппарата реактора биофильтра является актуальным для обеспечения сохранения здоровья рыбы и получения высоких приростов живой массы.

Целью наших исследований было изучить влияние дезинфекции воды в инкубаторах и системах для подращивания радужной форели путем установки ультрафиолетовых бактерицидных ламп мощностью 30 Вт и длиной волны 254 нм на высоте не более 5 см. В задачи работы входило исследовать в сравнительном аспекте действие ультрафиолетового излучения и раствора хлорамина на количественное содержание в воде мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (МАФАНМ), бактерий группы кишечной палочки (БГКП), а также выживание нитрифицирующих бактерий.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в Восточнoукраинском центре по разведению ценных видов рыб в условиях замкнутого водоснабжения при выращивании радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) в течение 2015–2016 гг. Для проведения опыта после биологической очистки воды в установках замкнутого водоснабжения для ее дезинфекции была установлена ультрафиолетовая бактерицидная лампа мощностью 30 Вт и длиной волны 254 нм на высоте до 5 см над водой. Дезинфектором, который принят нами для сравнения, был хлорамин в дозе 30 мг на 1 м³ воды [5]. Материалом для исследования служила вода

УЗВ, которую отбирали за биофильтром и непосредственно из биофильтра в трех местах: поверхностного слоя, на глубине 7–10 см и 17–20 см.

Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) определяли при температуре 30 °С, инкубируя посеы в течение 72 часов на среде Mueller Hinton Agar. Количество бактерий группы кишечных палочек в воде определяли на среде Endo Agar. Нитрифицирующие микроорганизмы выделяли согласно методике, описанной Spieck E. C., Hartwig I. и др. [6, 7].

Полученные данные обработаны статистически с помощью программы Statistica 5.5, Eraprobit analysis program used for calculating LC/EC values (Version 1.5).

Результаты исследований. В результате анализа данных, представленных в таблице 1 установлено, что количество МАФАнМ в воде установок замкнутого водоснабжения до дезинфекции находилось в пределах от $1,3 \pm 0,11 \times 10^7$ до $7,3 \pm 0,53 \times 10^7$ КУО/см³ воды.

Таблица 1 - Количество МАФАнМ в воде при различных способах дезинфекции установок замкнутого водоснабжения, $M \pm m$; n=10

Объект исследования	КМАФАнМ, КУО/см ³ воды			
	до дезинфекции бактерицидной лампой	после дезинфекции бактерицидной лампой	до дезинфекции хлорамином	после дезинфекции хлорамином
Вода за биофильтром: поверхностный слой на глубине 7–10 см на глубине 17–20 см	$6,3 \pm 0,41 \times 10^7$	$7,9 \pm 0,57 \times 10^{5*}$	$1,3 \pm 0,11 \times 10^7$	$2,4 \pm 0,16 \times 10^{3***}$
	$7,1 \pm 0,28 \times 10^7$	$8,8 \pm 0,6 \times 10^{5*}$	$1,5 \pm 0,12 \times 10^7$	$4,5 \pm 0,23 \times 10^{3***}$
	$7,3 \pm 0,53 \times 10^7$	$8,9 \pm 0,7 \times 10^{5*}$	$2,1 \pm 0,15 \times 10^7$	$3,1 \pm 0,22 \times 10^{3***}$
Вода из биофильтра: поверхностный слой на глубине 7–10 см на глубине 17–20 см	$4,9 \pm 0,27 \times 10^7$	$4,4 \pm 0,31 \times 10^7$	$1,7 \pm 0,16 \times 10^7$	$3,4 \pm 0,22 \times 10^{4***}$
	$3,2 \pm 0,14 \times 10^7$	$3,7 \pm 0,22 \times 10^7$	$1,9 \pm 0,17 \times 10^7$	$3,7 \pm 0,33 \times 10^{4***}$
	$5,3 \pm 0,41 \times 10^7$	$3,4 \pm 0,33 \times 10^7$	$2,6 \pm 0,14 \times 10^7$	$2,2 \pm 0,18 \times 10^{4***}$

Примечание: * $p < 0,001$ – в сравнении с водой до дезинфекции

Использование различных способов дезинфекции приводило к снижению количества МАФАнМ воды, в сравнении с водой, которая не подверглась дезинфекции. Однако при действии ультрафиолетовых лучей количество МАФАнМ в воде за биофильтром было ниже в поверхностном слое в 79,7 раз ($p \leq 0,001$), на глубине 7–10 см – 80,7 раз ($p \leq 0,001$) и на глубине 17–20 см – в 82,0 раза ($p \leq 0,001$). В воде, отобранной из биофильтра и на глубине 7–10 см, количество МАФАнМ после дезинфекции ультрафиолетовыми лучами не изменилось.

При дезинфекции воды хлорамином количество МАФАнМ уменьшалось и было на два порядка ниже, чем при дезинфекции воды ультрафиолетовыми лучами ($p \leq 0,001$; таблица 1).

Несколько иные результаты в сравнении с дезинфекцией воды ультрафиолетом нами получены при исследовании воды из биофильтра при дезинфекции хлорамином. В частности, при обработке воды хлорамином уменьшилось количество МАФАнМ, в сравнении с водой, которая не подверглась дезинфекции, в поверхностном слое – в 500 раз ($p < 0,001$), на глубине 7–10 см – 513 ($p \leq 0,001$) и на глубине 17–20 см – в 1181,8 раза ($p \leq 0,001$).

При различных способах дезинфекции установок замкнутого водоснабжения менялось и количество БГКП в воде (таблица 2).

Таблица 2 - Количество БГКП в воде при различных способах дезинфекции установок замкнутого водоснабжения, $M \pm m$; n=10

Объект исследования	Количество БГКП, КУО/см ³ воды			
	до дезинфекции бактерицидной лампой	после дезинфекции бактерицидной лампой	до дезинфекции хлорамином	после дезинфекции хлорамином
Вода за биофильтром: поверхностный слой на глубине 7–10 см на глубине 17–20 см	$6,5 \pm 0,31 \times 10^4$	$7,8 \pm 0,61 \times 10^{2*}$	$5,3 \pm 0,41 \times 10^4$	$4,5 \pm 0,32 \times 10^{2***}$
	$4,2 \pm 0,37 \times 10^4$	$5,3 \pm 0,42 \times 10^{2*}$	$6,1 \pm 0,42 \times 10^4$	$2,7 \pm 0,20 \times 10^{2***}$
	$1,1 \pm 0,12 \times 10^4$	$3,4 \pm 0,25 \times 10^{3*}$	$2,7 \pm 0,19 \times 10^4$	$1,5 \pm 0,12 \times 10^{2***}$
Вода из биофильтра: поверхностный слой на глубине 7–10 см на глубине 17–20 см	$3,3 \pm 0,22 \times 10^3$	$2,8 \pm 0,21 \times 10^3$	$5,3 \pm 0,42 \times 10^3$	$9,1 \pm 0,17 \times 10^{2***}$
	$3,0 \pm 0,24 \times 10^3$	$2,5 \pm 0,20 \times 10^3$	$4,6 \pm 0,37 \times 10^3$	$7,6 \pm 0,53 \times 10^{2***}$
	$1,7 \pm 0,11 \times 10^3$	$1,4 \pm 0,13 \times 10^3$	$1,7 \pm 0,15 \times 10^3$	$5,3 \pm 0,38 \times 10^{2***}$

Примечание: * $p < 0,001$ – в сравнении с водой до дезинфекции.

Установлено, что в воде за биофильтром количество БГКП до дезинфекции было на порядок выше, в сравнении с водой, отобранной с биофильтра как в поверхностном слое, так и на глубине. При дезинфекции воды ультрафиолетовыми лучами количество микроорганизмов в воде за биофильтром снижалось в поверхностном слое в 83,3 раза ($p \leq 0,001$), на глубине 7–10 см – 79,2 ($p \leq 0,001$) и на глубине 17–20 см – в 32,3 раза ($p \leq 0,001$). При дезинфекции воды хлорамином это уменьшение составило в 117,8, 225,9 и 180,0 раз ($p \leq 0,001$) соответственно.

В воде из биофильтра при действии ультрафиолета количество БГКП в воде не имело значительных изменений в сравнении с водой, которая не подвергалась дезинфекции. Однако, при действии хлорамина количество микроорганизмов оказалось ниже в поверхностном слое в 5,8 раза ($p \leq 0,001$), на глубине 7–10 см – 6,1 ($p \leq 0,001$) и на глубине 17–20 см – в 3,2 раза.

Изменения количества нитрифицирующих бактерий в воде при различных способах дезинфекции установок замкнутого водоснабжения представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Количество нитрифицирующих бактерий в воде при различных способах дезинфекции установок замкнутого водоснабжения, М±m; n=10

Объект исследования	Количество нитрифицирующих бактерий, КУО/см ³ воды			
	до дезинфекции бактерицидной лампой	после дезинфекции бактерицидной лампой	до дезинфекции хлорамином	после дезинфекции хлорамином
Вода за биофильтром: поверхностный слой на глубине 7–10 см на глубине 17–20 см	4,7±0,25×10 ⁶	2,6±0,15×10 ⁶ *	3,3±0,28×10 ⁶	1,8±0,16×10 ² ***
	2,5±0,21×10 ⁶	2,1±0,18×10 ⁶	2,8±0,25×10 ⁶	2,1±0,20×10 ² ***
	2,1±0,11×10 ⁶	2,7±0,67×10 ⁶	1,9±0,18×10 ⁶	2,2±0,15×10 ³ ***
Вода из биофильтра: поверхностный слой на глубине 7–10 см на глубине 17–20 см	6,4±0,27×10 ⁷	4,1±0,33×10 ⁷ *	4,5±0,41×10 ⁷	3,4±0,26×10 ⁴ ***
	4,1±0,36×10 ⁷	4,5±0,37×10 ⁷	2,4±0,24×10 ⁷	5,7±0,43×10 ³ ***
	2,9±0,21×10 ⁷	3,2±0,25×10 ⁷	2,0±0,17×10 ⁷	8,6±0,54×10 ³ ***

Примечания: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ – по сравнению с водой до дезинфекции.

Из приведенных в таблице 3 данных видно, что за биофильтром ультрафиолетовые лучи проявляют щадящее действие на нитрифицирующие бактерии воды, так как их количество уменьшалось только в поверхностном слое. На глубине 7–10 и 17–20 см количество бактерий не изменилось. Аналогичную ситуацию обнаружили и при исследовании воды из биофильтра. После дезинфекции ультрафиолетом количество нитрифицирующих бактерий снижалось в поверхностном слое воды в 1,6 раза. В то же время после дезинфекции бактерицидной лампой на глубине 7–10 и 17–20 см количество бактерий не изменилось и составило $4,5 \pm 0,37 \times 10^7$ и $3,2 \pm 0,25 \times 10^7$ КУО/см³, соответственно.

Вместе с тем, отметили губительное действие хлорамина на исследуемые микроорганизмы. В частности, после дезинфекции количество нитрифицирующих бактерий в поверхностной воде за биофильтром составило $1,8 \pm 0,16 \times 10^2$ КУО/см³ воды, на глубине 7–10 см – $2,1 \pm 0,20 \times 10^2$ и на глубине 17–20 см – $2,2 \pm 0,15 \times 10^3$ КУО/см³. В воде из биофильтра количество бактерий в поверхностной воде составило $3,4 \pm 0,26 \times 10^4$ КУО/см³ воды; на разных исследуемых глубинах (7–10 и 17–20 см) количество нитрифицирующих бактерий составило в среднем: $5,7 \pm 0,43 \times 10^3$ и $8,6 \pm 0,54 \times 10^3$ КУО/см³ воды; т.е. было сниженным на 3–4 порядка ($p < 0,001$).

Таким образом, проведенные исследования указывают, что использование для дезинфекции воды хлорамина в установке замкнутого водоснабжения (УЗВ) приводит к снижению количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (МАФАНМ), бактерий группы кишечной палочки (БГКП), нитрифицирующих микроорганизмов, как в воде за биофильтром, так и внутри реактора биофильтра. Это имеет негативное влияние на интенсивность нитрифицирующих процессов, что будет способствовать накоплению в воде нитритов.

Также необходимо отметить, что применение в УЗВ ультрафиолетовой бактерицидной лампы мощностью 30 Вт и длиной волны 254 нм, на высоте не более 5 см над водой позволяет значительно безопаснее проводить дезинфекцию воды. На это указывают стабильные показатели количества микрофлоры наполнителя реактора биофильтра, что позволяет получать больший выход рыбы вследствие уменьшения ее гибели из-за отсутствия нитритного отравления.

Заключение. 1. Обеззараживание воды в установке замкнутого водоснабжения ультрафиолетовой бактерицидной лампой мощностью 30 Вт и длиной волны 254 нм на высоте не более 5 см над водой позволяет значительно безопаснее проводить дезинфекцию воды, в сравнении с антимикробными препаратами (хлорамином).

2. Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (МАФАНМ) в воде с биофильтра после дезинфекции бактерицидной лампой мощностью 30 Вт и длиной волны 254 нм на высоте не более 5 см над водой уменьшалось на два порядка. В то время, как после дезинфекции хлорамином уменьшение было на четыре порядка. В воде из биофильтра содержание МАФАНМ было практически одинаковым как до, так и после дезинфекции бактерицидной лампой. При обеззараживании хлорамином содержание в воде МАФАНМ в биофильтре уменьшалось на два порядка, в сравнении с показателями до дезинфекции.

3. Дезинфекция воды в УЗВ с помощью бактерицидных ламп не приводит к нарушению микробиоценоза наполнителя реактора биофильтра. Количество основных нитрифицирующих бактерий в биофильтре после применения бактерицидной лампы на четыре порядка выше, чем при дезинфекции хлорамином.

Литература. 1. Characterization of the microbial community and nitrogen transformation processes associated with moving bed bioreactors in a closed recirculated mariculture system / Tal Y., Watts J. E. M., Schreier S. B., Sowers K. R. and Schreier H. J. - *Aquaculture*, Volume 215, Issues 1-4, 10 January 2003, Pages 187-202. 2. Juretschko S., Loy A., Lehner A. and Wagner M. 2002. «The Microbial Community Composition of a Nitrifying-Denitrifying Activated Sludge from an Industrial Sewage Treatment Plant Analyzed by the Full-Cycle rRNA Approach.» *Systematic and Applied Microbiology*, Volume 25, Issue 1, 2002, Pages 84-99. 3. Sugita H., Nakamura H. and Shimada T.. 2005. «Microbial communities associated with filter materials in recirculating aquaculture systems of freshwater fish.» *Aquaculture*, Volume 243, Issues 1-4, 3 January 2005, Pages 403-409. 4. Гриневич, Н. Є. Особливості використання біофільтрів з різними типами наповнювача в установках замкнутого водопостачання в аквакультурі / Н. Є. Гриневич // *Наук. вісн. Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій. Львів.* 2016.- Т. 18. №3 (70) – С. 57-61. 5. Sharrer M. J. Inactivation of bacteria using ultraviolet irradiation in a recirculating salmonid culture system / Sharrer M. J., Summerfelt S. T., Bullock G. L. // *Aquacult. Eng.* – 2005. – 33. – P. 135-149. 6. Spieck E. C. Selective enrichment and molecular characterisation of a previously uncultured Nitrospira-like bacterium from activated sludge / Spieck E. C., Hartwig I., Mc. Cormack F., Maixner M., et. al. // *Environ. Microbiol.* – 2006. – №8. – P. 405-415. 7. Altmann, D. P. In situ distribution and activity of nitrifying bacteria in freshwater sediment / Altmann D. P., Stief R., Amann D. De. Beer and Schramm A. // *Environ. Microbiol.* – 2003. – №5. – P. 798-803. 8. http://alecon.co.il/technology/fish_farming.html.

Статья передана в печать 20.03.2018 г.