

ОБУХОВА ОЛЬГА ВАЛЕНТИНОВНА
**БАКТЕРИОЦЕНОЗ ВОДЫ И СУДАКА
(STIZOSTEDION LUCIOPERCA)
В ДЕЛЬТЕ ВОЛГИ**

03. 00.18 - Гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



Москва, 2004

Работа выполнена в ФГУП "Каспийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства" и ФГУП "Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства"

Научный руководитель: кандидат биологических наук
Юхименко Людмила Николаевна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Симаков Юрий Георгиевич

кандидат биологических наук,
Шмакова Зинаида Ивановна

Ведущая организация - Астраханский государственный университет (АГУ)

Защита состоится «21» мая, 2004 г. в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета К 212. 122. 03 при Московской государственной технологической академии по адресу: 113149, г. Москва, ул. Болотниковская, дом 15

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке
Московской государственной технологической академии (МГТА)

Автореферат разослан «20» апреля 2004 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Николаева И.Ф.

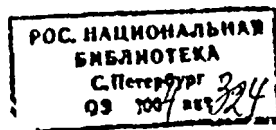
Общая характеристика работы

Актуальность проблемы. Волго-Каспийский бассейн — уникальный рыбопромысловый регион страны и сохранение его биоразнообразия, продуктивности и рыбохозяйственного потенциала является основной задачей в области охраны окружающей среды. При этом основополагающее значение имеет проведение экологического мониторинга, включая наблюдения за происходящими в гидроэкосистеме физико-химическими и биологическими процессами, уровнем загрязнения и последствиями этого влияния на состояние здоровья рыб (Liston, 1990; Григорьев, 1992; Ganthier, 1993; Novo et al., 1994; Ларцева, 1998; Иванов, 2000; Курапов, Ревякин, 2002).

Бактериофлора - обязательный структурный компонент водной экосистемы, формирование которой зависит от многообразных абиотических и биотических факторов, которые включают широкий спектр параметров и определяют общий фон их существования. Длительное антропогенное воздействие на водоем приводит к изменению адаптационных механизмов микрофлоры, повышению ее вирулентности, антибиотикорезистентности и появление атипизма (Abdellatif et al., 1991; Chin et al., 1992; Бойко, 1998; Журавлева, 1998; Юхименко с соавт., 1998; Бухарин, 1999). При этом в воде и рыбе условно-патогенные микроорганизмы могут персистировать длительное время, порой изменяя свой метаболизм, но не утрачивая свою патогенность. Следовательно, широкое распространение микрофлоры в гидроэкосистеме, доказанная патогенность многих видов как для рыб, так и для человека, свидетельствует об актуальности и информативной значимости микробиологических исследований различных гидробионтов и среды их обитания, особенно в регионах с нарушенной экологией (Vuradinovic, 1990; Tanaka et al., 1992; Ларцева, 1998; Wykowski, 1998; Бычкова, 2002, Карасева, 2003).

Цель и задачи исследования. Цель исследования - изучение бактериоценоза воды и судака в дельте Волги, микробиологических и экологических факторов, детерминирующих распространённость и образование паразитарных систем условно-патогенных микроорганизмов. Разработка профилактических рекомендаций по снижению уровня бактериемии рыб в природных и искусственных условиях. Для выполнения работы были поставлены следующие задачи:

1. Оценить качество вод Волго-Ахтубинской поймы и дельты р. Волги по эколого-микробиологическим показателям.
2. Провести количественные санитарно-микробиологические исследования судака и воды в местах его обитания.
3. Изучить качественный состав микрофлоры рыбы и среды ее обитания; выявить доминирующие группы микроорганизмов и их распространённость в дельте Волги по сезонам и годам. •



4. Исследовать признаки, характеризующие патогенность и способность к персистенции основных групп бактерий и определить их диагностическую ценность для ихтиопатологического анализа.

5. Изучить влияние некоторых распространенных в дельте Волги тяжелых металлов на чистые культуры доминирующих групп микроорганизмов.

6. Проанализировать влияние стрессовых факторов среды на развитие бактериемии судака в естественных условиях и при использовании его в рыбоводных целях.

7. Разработать рекомендации по снижению микробной обсемененности судака в естественной популяции и в условиях воспроизводства.

Научная новизна. Выполненная работа является первой по комплексу микробиологических исследований, проведенная в Волго-Каспийском регионе, основанная на теории единства организма и среды, что позволяет объективно оценивать санитарно-экологическую и эпизоотическую ситуацию на водоеме, а также выделить районы, наиболее подверженные антропогенному воздействию с учетом их трофности.

Расширен спектр методик, применяемых при изучении болезней рыб. Установлены различия микробиологических показателей при глубинном и поверхностном посевах, принятых в странах ЕС, свидетельствующие о необходимости их унифицирования. Впервые выявлены и определены различия фенотипического проявления факторов персистенции и/или патогенности выделенной микрофлоры и антибиотикорезистентности в зависимости от ее экотипической принадлежности. Определено влияние солей тяжелых металлов на морфологию и патогенные свойства доминирующих видов гидромикрофлоры.

На защиту выносятся результаты изучения эколого-микробиологической характеристики воды дельты Волги, бактериоценоза судака, факторов, влияющих на его формирование и биологические свойства выделенных микроорганизмов.

Практическая значимость. Основные результаты работы имеют большое значение как в теоретическом, так и в практическом плане - при установлении причин развития септицемии судака, особенно при его заболеваниях: дерматофибросаркоме и ахтериозе жабр, обусловленных изменениями условий окружающей среды и резистентности рыбы. Количественно-качественные показатели микрофлоры позволяют не только прогнозировать санитарно-эпизоотическую ситуацию на водоеме, но и разрабатывать лечебно-профилактические мероприятия в условиях искусственного рыборазведения.

Разработаны и отправлены на утверждение в Департамент ветеринарии Минсельхоза РФ «Рекомендации по борьбе с ахтериозом судака в пруду»

довых хозяйствах» и «Рекомендация по профилактике дерматофибросаркомы судака в естественных водоемах».

Апробация. Основные материалы диссертации были представлены на заседаниях Астраханского отделения Всероссийского общества микробиологов, эпидемиологов и паразитологов (1999, 2001, 2004), 49-ой студенческой научно-практической конференции (Астрахань, 1999); Всероссийской научно-практической конференции «Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов» (Москва, 2003); Международной молодежной конференции «Экологические проблемы крупных рек-3» (Тольятти, 2003); Ежегодной научно-практической конференции молодых ученых» (Астрахань, 2003).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 работ.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов и приложения. Работа изложена на 169 страницах, содержит 8 таблиц и 23 рисунка. Список использованной литературы включает 238 источников, из них 190 отечественных.

Глава I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Литературный обзор состоит из пяти разделов, в которых рассмотрены вопросы физико-географической характеристики Астраханской области, экологической обстановки всего Волго-Каспийского бассейна, влияния антропогенного загрязнения на биопродуктивность дельты Волги и Каспийского моря, использования гидробионтов для оценки качества вод, распространения условно-патогенной микрофлоры в промысловых и культивируемых рыбах, а также среде их обитания. Описана биологическая характеристика судака с учетом экологических и природно-социальных условий региона.

Ухудшение среды обитания и различные нарушения биотехники в условиях рыбоводства снижают резистентность организма рыбы, что способствует активизации адаптационных механизмов микроорганизмов и приводит к повышению обсемененности внутренних органов и тканей гидробионтов.

В заключении литературного обзора делается вывод о целесообразности проведения комплексных санитарно-микробиологических исследований в области ихтиопатологии и экологии, поскольку некоторые условно-патогенные бактерии могут быть индикаторами загрязнения водоемов и физиологического состояния рыбы.

Глава II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в лабораториях водных проблем и токсикологии и научной диагностики болезней рыб КаспНИРХ в период с 1999 по 2003 гг. Дифференциальная диагностика микроорганизмов и заключительная обработка материала проводилась в лаборатории ихтиопатологии ФГУП "ВНИИПРХ".

Эколого-микробиологическис исследования вод Волго-Ахтубинской поймы (р. Ахтуба, р. Бузан) и р. Волги (в черте города) проводили ежемесе-чно (с апреля по ноябрь), а дельты (Главный и Гандуринский банки) - по-сезонно в 2001, 2003 гг., всего 60 проб воды.

Для оценки степени загрязнения водной среды в качестве стандарт-ных микробиологических методов выбраны следующие показатели: общее количество бактерий на мембранных фильтрах методом ультрафильтрации (Разумов, 1932), численность гетеротрофных бактерий и олигокарбофильной микрофлоры (Абакумов, 1992).

Оценку состояния экосистемы по показателям развития бактерио-планктона проводили согласно комплексной экологической классификации качества поверхностных вод суши и по шкале экологических модификаций (Абакумов, 1992; Оксийук с соавт., 1993).

При выполнении санитарно-бактериологического мониторинга ис-следовали 175 экз. судака естественной популяции и 10 экз. рыб после зи-мовки в прудах АОРЗ (Александровского осетрового рыбоводного завода), параллельно анализировали воду в местах его обитания.

Сбор материала по воде и рыбе осуществляли посезонно с 1999 по 2001 гг. на Главном, Гандуринском банках и на р. Бузан.

Для изучения качественного состава микрофлоры за период иссле-дований собрано и обработано более 2-х тысяч бактериальных культур, вы-деленных из воды, жабр, крови, печени, почек, кишечника и мышц здоро-вого и больного дерматофибросаркомой судака. Наряду с этим, проводили учет количественных показателей микробного обсеменения печени, жабр и мышц рыб, а также воды в местах их обитания.

При проведении исследований использовали как общепринятые традиционные, так и усовершенствованные и модифицированные методы. При этом использовали основные принципы и этапы бактериологического исследования согласно Лабораторному практикуму по болезням рыб (1983) и Сборнику инструкций по борьбе с болезнями рыб (1999).

У всех выделенных штаммов определяли галотолерантность, т. е. способность расти в МПБ (мясо-пептонном бульоне) с 3,0; 7,0 и 10,0% хло-рида натрия; анализировали факторы патогенности: протеолитическую, ле-цитиназную, гемолитическую активность, а у аэромонад - ДНКазную актив-ность. Помимо этого, изучали резистентность выделенных микроорганизмов

к некоторым используемым в рыбоводстве антибиотикам: ампицилину, бензопенициллину, левомицетину, стрептомицину, тетрациклину и фурадонину.

В итоге вся микрофлора, изолированная из органов судака и воды, была проведена по 38-40 микробиологическим тестам и идентифицирована до вида (Берджи, 1997; Пивоваров, Королик, 2000).

Для изучения влияния различных концентраций тяжелых металлов на ростовую реакцию и адаптационные возможности условно-патогенной микрофлоры были проведены экспериментальные работы с использованием штаммов бактерий, выделенных из речной воды дельты р. Волги: *Citrobacter freundii* (авирулентный); *Aeromonas hydrophila* (авирулентный) и *A. hydrophila* (обладающий протеолитической, гемолитической, лецитиназной и ДНКазной активностью).

Численность колониеобразующих микроорганизмов определяли методом десятикратных разведений и последующим высевом аликвоты в 3-х повторностях на плотную питательную контрольную среду (МПА) и с добавлением сульфидов кадмия (CdSO_4), меди (CuSO_4) и цинка (ZnSO_4) в концентрациях 5,10 и 20 мкг/л. На третьи сутки после посева проводили повторное тестирование всех испытуемых штаммов на наличие или изменение маркеров патогенности.

При проведении сравнительного анализа количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) при различных методах посева объектами исследования были мышца и печень судака, выловленного в районах промысла дельты Волга в летне-осенний период 1999 г. Посевы проводили двумя методами: глубинным (принятым в Российской Федерации) и поверхностным (утвержденным в странах ЕС).

Экспериментальные исследования по влиянию мяса судака, больного дерматофибросаркомой, на организм теплокровных (белые крысы), проводили на базе Астраханской областной государственной ветеринарной лаборатории. Опыт осуществляли в двух вариантах: I - простое скармливание мясом больного судака и II - скармливание после инъекции гидрокортизона в дозе 125 мг/кг веса, приводящей к иммунодефициту. Длительность наблюдения составила 3 месяца. В качестве первого контроля использовали интактных животных, которым в рационе животный белок заменяли мясом судака. Второй контроль - введение гидрокортизона и включение в рацион мяса здорового судака. В процессе опыта наблюдали за поведением животных, а в конце эксперимента изучали патологические изменения и гистоструктуру внутренних органов подопытных животных.

Математическая обработка результатов осуществляли методом вариационной статистики на компьютере по программам DISTAT и OREGAN.

Глава III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Эколого-микробиологическая оценка воды и рыбы в дельте Волги

В результате проведенных исследований было установлено, что для экосистемы дельты р. Волги характерна устойчивая сезонная динамика общей численности бактериопланктона и гетеротрофной микрофлоры. Весенние пики количественных показателей развития микроорганизмов были, в первую очередь, связаны с увеличением количества органического вещества и вовлечением его в биологический круговорот гидроэкосистемы, а также с большим поступлением в водоем аллохтонной микрофлоры в паводковый период. В значительной степени это отразилось на численности бактериопланктона, максимум которого приходился на май месяц и составлял в среднем $10,7 \pm 0,7$ - на р. Волга; $5,2 \pm 0,5$ - на р. Ахтуба; $7,8 \pm 0,2$ - на р. Бузан; $4,8 \pm 0,4$ и $3,3 \pm 0,3$ млн. кл./мл - на Главном и Гандуринском банках, соответственно. В последующие месяцы отмечено снижение общего количества микрофлоры с минимумом в июле-августе (в среднем $2,3 \pm 0,6$ млн.кл./мл) и незначительным увеличением в сентябре.

Динамика развития гетеротрофных бактерий в сезонном аспекте в основном зависит от содержания легкоокисляемых органических веществ, температуры воды, а также развития и физиологического состояния фито- и зоопланктона. Так, низкие количественные показатели белокразрушающей микрофлоры в июне-июле были на уровне $3,1 \pm 0,7$ тыс.кл./мл и обусловлены высокой активностью планктонных организмов. Пик численности сапрофитов приходился на конец вегетационного периода (сентябрь-октябрь) и достигал в среднем $16,1 \pm 3,1$ - на р. Волга; $37,4 \pm 6,9$ - на р. Ахтуба и $23,3 \pm 3,4$ ТЫСКЛ/МЛ - на р. Бузан. На Главном и Гандуринском банках количество гетеротрофных бактерий было максимальным в августе и составляло $2,85 \pm 0,2$ и $3,61 \pm 1,1$ тыс.кл./мл, соответственно. Значительное увеличение численности данной микрофлоры связано с обогащением водной среды метаболитами гидробионтов и продуктами их постлетальной минерализации.

Известно, что при нарушении микробных ценозов незагрязненных природных вод избыточным количеством органических веществ наступает изменение соотношения бактериального населения, регистрируемого на мясопептонном агаре и на средах, бедных органическим веществом (Лаптева, 1988; Марголина, 1989). Поэтому наряду с общепринятыми микробиологическими показателями для оценки качества и уровня трофики исследуемых вод мы использовали коэффициент соотношения количества олигокарбофильных бактерий к численности сапрофитов.

Результаты наших исследований показали небольшие значения индекса трофности на водотоках дельты Волги. Основной пик развития олиго-

карбофильной микрофлоры приходился на июль-август, наиболее четко выраженный в гидрозкосистемах с высокой трофностью, обусловленных массовым развитием и активностью фитопланктона. Так, на р. Ахтуба индекс трофности был равен $6,9 \pm 0,6$, на р. Бузан - $7,5 \pm 0,6$, на р. Волга - $6,6 \pm 0,3$, на Гандуринском банке в августе он достигал в среднем $13,4 \pm 0,9$, а на Главном банке - $9,8 \pm 0,9$ ($P < 0,05$). Осенью было установлено постепенное снижение численности олигокарбофильных бактерий и уже в октябре индекс трофности на водотоках верхней зоны дельты Волги не превышал $2,3 \pm 0,1$, в то время как на Главном и Гандуринском банках он был $5,4 \pm 0,3$ и $5,9 \pm 0,3$, соответственно.

Результаты комплексного исследования в дельте р. Волги и Волго-Ахтубинской пойме позволили дифференцировать степень загрязнения данных водотоков согласно эколого-санитарной классификации качества поверхностных вод суши и индекса Романенко (Оксиук с соавт., 1993); охарактеризовать состояние экосистемы по шкале экологических модификаций; определить трофность водоема и выделить зоны наибольшего антропогенного воздействия на гидрозкосистему (Абакумов, 1992).

Установлено, что уровень органического загрязнения исследуемых водотоков в течение всего вегетационного периода соответствовал Р - мезосапробной зоне и варьировал от достаточно чистой до слабо загрязненной (табл. 1), а состояние экосистем было на уровне фоновых значений. Увеличение биогенной нагрузки аллохтонного и внутриводоемного происхождения во время половодья, в конце вегетационного периода определило ухудшение качества вод Волго-Ахтубинской поймы и р. Волги до сильно загрязненной, а нижней зоны дельты - до умеренно загрязненной (а- мезосапробная зона). Гидрозкосистемы Волго-Каспийского бассейна в данные периоды испытывали значительное антропогенное напряжение, а на рр. Волга, Ахтуба и Бузан даже с элементами экологического регресса, что подтверждалось соответствующей тенденцией изменения величины индекса Романенко.

Анализируя пространственное распределение микрофлоры, мы выделили участки, испытывающие постоянную антропогенную нагрузку. Наиболее загрязненной была верхняя зона дельты, подверженная повышенному антропогенному воздействию, что привело к нарушению целостности экосистемы, а микроорганизмы здесь выступали как объективные тест-индикаторы. Учитывая повышенное содержание гетеротрофной микрофлоры, низкие значения индекса трофности в течение всего вегетационного периода, а также максимальную численность бактериопланктона во время половодья исследуемые водотоки по степени загрязнения можно представить в виде убывающей последовательности: р. Волга > р. Ахтуба > р. Бузан > Гандуринский банк > Главный банк (табл. 1).

Эколого-микробиологическая характеристика водных экосистем дельты Волги

Районы исследования	Месяцы							
	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
р. Волга	<u>4а</u>	<u>4а</u>	<u>3б</u>	<u>3а</u>	<u>3а</u>	<u>4б</u>	<u>4б</u>	<u>3б</u>
	0,20	0,05	0,05	0,10	0,11	0,48	0,56	0,19
р. Ахтуба	<u>3б</u>	<u>3б</u>	<u>3б</u>	<u>3б</u>	<u>4б</u>	<u>4б</u>	<u>4а</u>	<u>3а</u>
	0,33	0,05	0,12	0,30	0,69	0,65	0,20	0,12
р. Бузан	<u>3б</u>	<u>3б</u>	<u>3б</u>	<u>3а</u>	<u>3б</u>	<u>4б</u>	<u>4б</u>	<u>3а</u>
	0,11	0,04	0,04	0,09	0,20	0,54	0,71	0,14
Главный банк		<u>3б</u>			<u>3а</u>		<u>3а</u>	
		0,06			0,10		0,09	
Гандуринский банк		<u>3а</u>			<u>3б</u>		<u>3б</u>	
		0,05			0,17		0,29	

Примечание: числитель-разряд качества воды согласно эколого-санитарной классификации (Оксиюк, 1993): 3а-достаточно чистая (β' - мезосапробная зона); 3б - слабо загрязненная (β'' - мезосапробная зона); 4а - умеренно загрязненная (α' - мезосапробная зона); 4б - сильно загрязненная (α'' - мезосапробная зона); знаменатель - индекс Романенко: процентное отношение количества гетеротрофных бактерий к общей численности бактериопланктона: менее 0,03 - особо чистая; 0,03-0,3 - чистая; 0,3-3,0 - грязная; более 3,0 - особо грязная.

Следует отметить, что весенний пик численности бактериопланктона был наиболее ярко выражен на реках Волга и Бузан, а в дельте - на Главном банке, где проходит основной сток паводковых вод. Однако, максимальные значения количества сапрофитной микрофлоры в летне-осенний период были отмечены на р.Ахтуба и Гандуринском банке, характеризующиеся низкой проточностью, высокой зарастаемостью водной растительностью и заиленно стью дна, способствующие интенсивному накоплению органического вещества и эвтрофикации данных водотоков, что подтверждено относительно высокими значениями индекса трофности. Таким образом, устойчивая сезонная динамика структурных и функциональных показателей микробных сообществ дельты р. Волги отражает сложившийся и стабильный

комплекс биотических и абиотических факторов, характерных для данной экосистемы. По результатам наших исследований ухудшение качества вод в различные сезоны года обусловлено гидрологическим и гидрохимическим режимами, а также трофикой водоемов.

Общее количество мезофильных аэробных, анаэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) - один из важнейших критериев, необходимый для объективной оценки эпизоотической ситуации экосистемы дельты Волги. Он заключается в изучении окружающей среды в местах промысла, включая мониторинговые наблюдения за состоянием рыбы, необходимость которого отражена в литературе (Novo et al., 1994; Ларцева, 1998; Бычкова, 2002, Карасева, 2003).

Установлена прямая корреляция между показателями КМАФАнМ воды и рыбы. При этом, общая микробная обсемененность зависела от сезона года, района исследования и состояния организма самой рыбы. Так, на Главном банке обсемененность воды и печени судака имела самые низкие количественные показатели в среднем - $2,8 \pm 0,8$ тыс.клУмл - в воде и $(1,5 \pm 0,4)$ ТЫСКЛ/Г - в рыбе, достигая своих максимальных значений в августе - $4,9 \pm 0,5$ ТЫСКЛ/МЛ и $2,7 \pm 0,3$ тыс.кл/г, соответственно. Результаты санитарно-микробиологических исследований судака на Гандуринском банке и р. Бузан показали близкие значения обсемененности печени изучаемого объекта - в среднем $3,0 \pm 0,4$ и $3,4 \pm 0,7$ тыс. клУг, а количественные микробиологические показатели воды достигали максимальных значений в августе и составляли $7,3 \pm 0,7$ и $6,6 \pm 0,9$ тыс.клУмл, соответственно. Следует отметить, что обсемененность воды там оставалась на достаточно высоком уровне и в осенний период: $3,5 \pm 0,4$ и $5,5 \pm 1,1$ тыс. клУмл, соответственно, что свидетельствует об экологическом неблагополучии данных районов вследствие значительного антропогенного загрязнения Астраханским газоконденсатным комплексом и высокой эвтрофикой этих водоемов.

Симптоматично, что обсемененность печени судака была выше весной, составляя в среднем $1,9 \pm 0,3$ тыс. клУг, а осенью - $1,2 \pm 0,5$ тыс. клУг, что связано с низкой резистентностью исследуемых объектов в этот сезон года.

При проведении сравнительного анализа глубинного и поверхностного, методов посева при микробиологической оценке рыбы выявлены значительные расхождения в ее результатах. Как правило, при поверхностном посеве показатели обсемененности были выше на порядок, чем при глубинном. Это свидетельствует о необходимости унифицирования методологических подходов при микробиологическом изучении КМАФАнМ как по отечественным, так и по зарубежным стандартам.

3.2. Бактериоценоз судака в дельте волги и влияние на него различных факторов среды

За период наших исследований из воды и рыбы было выделено 28 видов бактерий, относящихся к 15 родам: *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Moraxella*, *Proteus*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, а также несколько видов и родов несовершенных грибов - *Fungi*.

В работе приведены характеристики всех выделенных нами видов с указанием частоты их встречаемости в воде и в рыбе, а также литературные данные об их эпизоотической, санитарно-экологической и эпидемиологической значимости

Энтеробактерии. За период исследований выделено 648 штаммов. По числу выделенных родов и видов данное семейство доминировало в микрофлоре судака и в воде дельты Волги, составляя $26,5 \pm 0,3$ и $24,6 \pm 0,3\%$ проб, соответственно. При этом, наиболее часто в рыбе встречали микроорганизмы родов *Proteus* - $28,9 \pm 0,6\%$ и *Citrobacter* - $22,4 \pm 0,3\%$ проб. Обращает на себя внимание довольно редкая встречаемость в воде и рыбе индикаторно-значимых *E.coli* - $4,6 \pm 0,8$ и $5,5 \pm 0,8\%$ и *Salmonella* sp. - $3,1 \pm 0,4$ и $4,3 \pm 0,8\%$ проб соответственно, что свидетельствует о продолжающемся антропогенном прессинге на водную экосистему, когда условно-патогенная микрофлора превалирует над индикаторной, что согласуется с литературными данными (Bragg, 1991; Виноградова, 1988; Виноградова, Пархомчук, 1991).

Аэромонады. За период исследования было выделено 517 штаммов бактерий этого рода. Как в воде, так и в рыбе доминировал один вид - *A.hydrophila*: $26,7 \pm 0,8$ и $28,2 \pm 0,2\%$ проб, соответственно. При этом, *Aeromonas* sp., *A.hydrophila*, *A.caviae* и *A.schubertii*; чаще выделяли из рыбы, чем из воды, а *A.sobria*, наоборот, чаще - из воды. В удельном весе всей выделенной микрофлоры аэромонады составляли в воде $20,4 \pm 0,4$; в рыбе $21,1 \pm 0,4\%$ проб. Довольно частым явлением была одновременная высеваемость 2-х или 3-х видов аэромонад из одного органа, что согласуется с данными, ранее приведенными Л.Н. Юхименко (1998).

Псевдомонады. За период наших исследований из анализируемого материала было выделено 449 штаммов бактерий этого рода. В удельном весе всей выделенной микрофлоры в воде они составляли $17,7 \pm 0,6$; в рыбе - $18,3 \pm 0,6\%$ проб. При этом в воде доминировали изоляты *Ps.fluorescens* - $32,6 \pm 0,7$, а в рыбе - *Ps.sepatia* $35,7 \pm 0,7\%$ проб; *Ps.putida* и *Ps.syringae* составляли в воде $13,1 \pm 0,9$ и $23,9 \pm 0,7\%$, а в рыбе $14,1 \pm 0,8$ и $17,9 \pm 0,9\%$ штаммов соответственно.

Флавобактерии. За период исследования было выделено 372 штамма бактерий этого рода, составляющего в удельном весе всей выделенной микрофлоры $16,5 \pm 0,5\%$ - в воде и $14,9 \pm 0,6\%$ - в рыбе.

При этом, в структуре рода доминировал один вид - *F.aquatile* 37,2±0,7 и 35,3±0,6% проб, соответственно. *Fl.capsulatum*, *Fl.ferruginicum* и *Fl.rigense* составляли в воде 25,5±0,2; 23,2±0,2 и 14.1±0,2% проб, а в рыбе 20,7±0,2; 25,8±0,3 и 18,2±0,4% проб, соответственно.

Существенных различий встречаемости доминирующих групп бактерий по районам исследования нами не выявлено. Основными биотопами выделенной микрофлоры были желудочно-кишечный тракт, жабры и почки. Существенное инфицирование крови рыб бактериями группы протей и частая высеваемость из внутренних органов энтеробактеров, эдвардсиелл, провиденей, аэромонад и псевдомонад указывает на серьезную бактериемию судака.

Таким образом, близкий коэффициент корреляции между обсемененностью воды и рыбы доминирующими группами бактерий свидетельствует о возможности их использования в качестве тест-индикаторов для оценки санитарно-эпизоотического и экологического состояния водоема.

3.3. Сезонная динамика микрофлоры, выделенной из воды и рыбы

Температурный фактор активизирует или подавляет рост микрофлоры, обуславливая ее сезонную динамику с периодическим доминированием сменяющих друг друга популяций бактерий. Она может характеризовать стабилизацию, рост и снижение обсеменности объектов внешней среды. Сезонная сукцессия характерна для большинства водоемов и является одним из важных показателей устойчивости микробного сообщества, а также степени его приспособленности к условиям обитания, где лимитирующим является термический режим водоема. При повышении температуры низкая концентрация растворенного кислорода в воде вызывает увеличение скорости прохождения воды с содержащимися в ней токсикантами и микробами через жабры и кишечник. Следовательно, время, в течение которого рыба подвергается воздействию вредных веществ и бактерий, увеличивается, т. е. сокращается цикл заражения рыбы микрофлорой, а темп ее обсеменения ускоряется (Ведемейер, 1980; Беляков, Яфаев, 1989; Bragg, 1991; Литвин, 1999).

Особенности сезонного распределения микрофлоры, выделенной из воды и рыбы, отражают динамику их гетерогенности и регулирования в водной экосистеме. Выявлены ярко выраженная цикличность, эпизоотические подъемы и спады, характеризующие стабилизацию, рост и снижение обсеменения объектов окружающей среды. Так, доминирующие в анализируемом материале энтеробактерии достигали максимума в своем развитии летом, составляя в воде и рыбе 35,3±0,8 и 40,7±0,7% проб, соответственно. При этом цитробактеры составляли 26,5±0,3 и 20,6±0,5%, протей 35,6±0,2 и 23,2±0,8% проб в структуре семейства. Весной отмечена несколько повышенная обсемененность энтеробактериями рыбы по сравнению с водой, в

среднем в 1,2 раза, что обусловлено ослабленным физиологическим статусом судака в пред- и посленерестовый период.

Сезонная цикличность аэромонад связана с эвтрофикой водоема и природно-климатическим фактором, комплекс которых обуславливает плавное изменение их численности. Максимум развития бактерий этого рода в воде и рыбе был отмечен летом, достигая $23,5 \pm 0,6$ и $25,2 \pm 0,4\%$ проб, соответственно. При этом в рыбе доминировали *Aeromonas* sp. - $24,5 \pm 0,8$ и *A. hydrophila* - $30,6 \pm 0,9\%$ проб. Симптоматично, что пик аэромонадных инфекций у людей, вызванных *A. hydrophila*, в Астраханской области приходился на лето и раннюю осень (Бойко, 1998; Журавлева, 1998). В эти сезоны года нами установлено незначительное преобладание аэромонад в рыбе, по сравнению с водой, что, по всей вероятности, произошло за счет пассирования по трофическим звеньям через рыбу, которой питался судак в это время. Следовательно, природные и физиологические факторы обеспечивали функциональное развитие аэромонад и обусловили благоприятные условия их более частой встречаемости в рыбе, чем в воде. При анализе материала обращает на себя внимание ярко выраженная сезонная цикличность развития неферментирующих псевдомонад и флавобактерий с максимумами развития весной и осенью с небольшим преобладанием в воде.

Ацинетобактеры, моракселлы, алкалигенесы в анализируемом материале выделялись примерно на одном уровне без каких-либо сезонных пиков. Бациллы и грибы несколько преобладали в весенний период за счет паводковых вод, насыщенных взвешенными веществами органического и неорганического происхождения и подтопления береговой зоны, влекущей за собой попадание почвенной флоры в водную экосистему.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о сезонной неоднородности и гетерогенности микробных популяций в гидроэкосистеме, цикличность которых необходима им для саморегуляции своей численности.

3.4. Изучение галотолерантности выделенной микрофлоры

В результате экспериментального анализа нами установлена значительная галотолерантность всей выделенной микрофлоры, причем жизнеспособность рыбных штаммов была несколько выше, чем у водных. Самые высокие показатели толерантности были зарегистрированы в 3,0 и 7,0 % растворе хлорида натрия - в 80,0 и 36,0% случаев соответственно.

Обращает на себя внимание значительная устойчивость к солевым растворам грампозитивных бацилл. Так, в 3,0 % концентрации жизнеспособными оставалась 76,7 % штаммов. С увеличением концентрации соли до 7,0 и 10,0 % выживаемость этих микроорганизмов снижалась в среднем в 1,6 раза. Изолированные нами грибы ингибировал только 20,0% раствор NaCl , т. е. у этой группы микро- и микофлоры, нежелательной в гигиеническом

плане, достаточно много шансов оставаться жизнеспособными вплоть до готовой продукции.

Доминирующие в воде и рыбе в весенний и осенний сезоны псевдомонады и флавобактерии несколько преобладали в биопротиле водных штаммов. Однако рыбные штаммы этих микроорганизмов были галотолерантнее водных в 2,0 и 2,4 раза, соответственно ($P < 0,05$), что, по-видимому, связано с миграциями весной и ранней осенью из Северного Каспия в реку судака, который уже был контаминирован морской флорой. В пользу этого свидетельствуют данные о близких показателях галотолерантности рыбных и водных штаммов в летний сезон. В связи с этим можно предложить, что галотолерантность микрофлоры может быть индикатором популяционной структуры рыб.

3.5. Изучение факторов патогенности выделенной микрофлоры (протеаза, лецитиназа, гемолизин, ДНКаз)

Антропогенный прессинг на окружающую среду приводит к изменению условий существования бактерий, активизируя их адаптационные механизмы, которые сопровождаются процессами изменчивости микробов. В первую очередь - это факторы патогенности, которые выполняют двойную функцию, обеспечивая выживание паразита как в организме, так и во внешней среде (Бойко, 1998; Бухарин, 1999). Следовательно, изучение патогенных свойств бактерий, играющих роль адаптивных факторов - неотъемлемая часть микробиологических исследований.

Известно, что с помощью ферментов протеиназ и лецитиназ бактерии преодолевают тканевые барьеры, расщепляют белковые молекулы и при интенсивном размножении в рыбе определяют ее автолиз, порчу и различные патологические процессы (Карпор, 1982; Liston, 1988, 1990).

В результате проведенных нами исследований выявлено, что гидрофлора обладала более высокими значениями протеолитической и лецитиназной активности (в 1,4 и 1,2 раза соответственно), чем выделенная от рыб.

Гемолитическая активность (феномен Канагава), т. е. способность микроорганизмов разрушать человеческие эритроциты - свидетельство эпидемиологической опасности бактерий для человека. В отличие от протеазы и лецитиназы, преобладающих у водных штаммов микроорганизмов, гемолитической активностью обладали почти на одном уровне штаммы, выделенные как из воды, так и из рыбы, соответственно в $20,1 \pm 0,7$ и $18,8 \pm 0,8\%$ случаев. Следовательно, независимо от происхождения культуры, микрофлора, персистирующая в водной экосистеме дельты Волги, представляет определенную эпидемиологическую опасность для человека.

Особую привлекательность как маркер патогенности имеет ДНКазная активность аэромонад, поскольку подтверждена ее близкая корреляция со способностью вызывать патологические процессы у рыб и человека

(Юхименко, 1988; Camahan et al., 1989; Cercenado, 1989; Бойко, 1998). Полученные нами результаты показали, что ДНКазы у штаммов, выделенных из воды обнаружена в $70,3 \pm 0,6\%$, а из рыбы - в $66,0 \pm 0,4\%$ случаев. Следовательно, миграция аэромонад по схеме вода-рыба-вода осуществляется по пищевым звеньям или в результате влияния биотических и абиотических составляющих водной экосистемы. По-видимому, благодаря именно ДНКазе аэромонады способны эффективно адаптироваться к организму рыб, вступая с ними в различные симбиотические отношения.

Результаты анализа сезонной динамики маркеров патогенности показали ее динамичное нарастание у рыбных штаммов выделенных нами микроорганизмов. При этом гидромикробиоценоз сезонно практически не изменяла показателей своей патогенности. Это согласуется с принципом экологической детерминации факторов патогенности по О.В. Бухарину (1999) и служит не только инструментом сохранения видов, но и обеспечивает устойчивость их систем. Ее необходимость проявляется, прежде всего, при контакте с популяцией хозяина, в данном случае с рыбой. Так, протеолитическая активность всей микрофлоры, выделенной от судака, возрастала от весны к осени в 1,3; лецитиназная, гемолитическая и ДНКазная - в 1,2 раза. Здесь наглядно прослеживается связь нарастания факторов патогенности с улучшением физиологического статуса рыб, связанная с их летним и осенним нагулом. В то же время, высокая патогенность бактерий в данный период обуславливает их эпидемиологическую значимость для людей в Астраханской области (Погорелова с соавт., 1995; Бойко, 1998).

Симптоматично, что *A. hydrophila*, доминирующая в нашем материале и в сазане, исследуемом ранее (Ларцева, 1998), в 30,0% случаев имела самую высокую ДНКазу (от 1,0 до 4,0 мм) с июня до середины октября. Доминантами патогенных свойств у энтеробактерий были лецитиназа, за исключением протеев, которые лидировали по протеазе. У псевдомонад и флавобактерий в основном регистрировалась протеаза. Бациллы и грибы имели более чем в 50,0% случаев протеазу и лецитиназу.

Таким образом, учет набора факторов патогенности и (или) нерсистенции позволяет характеризовать конкретный штамм микроорганизма по способности образовывать паразитарные системы, т.е. экологическое благополучие водоемов может тестироваться микробиологическими методами.

3.6. Изучение антибиотикорезистентности выделенной из воды и рыбы микрофлоры

Изучение антибиотикорезистентности микрофлоры является логическим завершением бактериологических исследований в области биологии, ветеринарии, медицины. Антибиотикорезистентность приобретает микроорганизмами в качестве защитного фактора от изменений окружающей среды, обусловленных техногенным прессом (Мойсеенко, 1994). Наши исследова-

дования показали, что микрофлора, обсеменяющая судака и воду, обладала множественной антибиотикорезистентностью. Выделенные микроорганизмы проявляли максимальную чувствительность к левомицетину $2,7 \pm 0,2$; затем - к тетрациклину $-9,7 \pm 0,4$, стрептомицину $-15,6 \pm 0,6$, фурадонину $-16,5 \pm 0,4$ и ампицилину $-79,5 \pm 0,6\%$ случаев. Минимальная чувствительность у всех бактерий была зарегистрирована к бензилпенициллину — $96,0 \pm 0,6\%$. Следовательно, наличие маркеров патогенности и антибиотикорезистентности у выделенных микроорганизмов свидетельствуют об их высоких адаптационных возможностях, что позволяет им длительно персистировать в объектах окружающей среды, т. е. в воде и гидробионтах.

3.7. Изучение биологических свойств некоторых условно патогенных микроорганизмов в результате взаимодействия с солями тяжелых металлов

Тяжелые металлы являются главной компонентой в загрязнении Волго-Каспийского бассейна. Попадая в водоемы со сточными водами промышленных предприятий, они вызывают необратимые изменения природных экосистем. В условиях природного и антропогенного загрязнения особую значимость приобретают методы контроля состояния водной среды, которые сочетают быстроту, информативность, доступность и широкомасштабность. Такими возможностями обладают методы биотестирования, которые позволяют оценить биологическую опасность загрязнения вод токсическими веществами (Никаноров, 1991, 2000; Орлов, 2002).

В последние годы внимание исследователей привлекли микроорганизмы, которые могут быть тест - объектами, поскольку обладают рядом преимуществ: они сравнительно легко культивируются, могут быть получены в форме однородного материала, чувствительного к токсикантам, не уступая другим организмам. Эти отличительные свойства водных бактерий открывают перспективу их более широкого использования в биоиндикации, а также в комплексе исследований, связанных с охраной гидроэкосистемы от загрязнения (Дмитриева, Безвербная, 2002).

В связи с этим нами были изучены биологические свойства некоторых условно-патогенных микроорганизмов при их взаимодействии с солями тяжелых металлов.

Сульфидкадмия ($CdSO_4$)

Результаты проведенных нами экспериментов показали, что все используемые концентрации соли кадмия (5, 10 и 20 мг/л) оказывали ингибирующее действие на испытываемые штаммы (*Citrobacter freundii*, *Aeromonas hydrophyla* авирулентный и вирулентный штаммы). Однако, наиболее устойчивым к действию соли был цитробактер, численность которого даже при максимальной концентрации металла - 20 мг/л уменьшилась только в 1,8 раза по сравнению с контролем.

Самым чувствительным оказался авирулентный штамм *A. hydrophyla*, количество колоний которого, выросших на селективной среде (МПА) с 20 мг/л сульфида кадмия, сократилось в 8,4 раза, по сравнению с контролем, а *A. hydrophyla* вирулентный - только в 2,1 раза. В концентрации соли кадмия 10 и 20 мг/л нами было отмечено изменение морфологических признаков - замедление роста и уменьшение примерно в 1,5 раза размеров колоний авирулентных аэромонад. У *S. freundii* и *A. hydrophyla* с патогенными свойствами данные признаки были на уровне контроля.

Сульфиды меди и цинка ($CuSO_4$, $ZnSO_4$).

Данные соли стимулировали рост всех штаммов бактерий, используемых в опыте. Наиболее устойчивым был штамм *A. hydrophyla*, обладающий протеолитической, гемолитической, лецитиназной и ДНКазной активностью. Его численность была выше, чем в контроле при всех концентрациях сульфидов, достигая максимальных величин при 10 мг/л $CuSO_4$ и 5 мг/л $ZnSO_4$, увеличиваясь в 1,6 и 3,5 раза, соответственно. Максимальное отклонение количества колоний цитробактера зарегистрировано при 5 мг/л солей меди и цинка и было в 2,1 и 3,2 раза больше, чем в контроле. При этом, самым восприимчивым к действию этих сульфидов был авирулентный штамм *A. hydrophyla*; соли оказывали на него стимулирующее действие, увеличивая численность колоний при 10 мг/л $CuSO_4$ и $ZnSO_4$ в 8,8 и 9,3 раза по сравнению с контролем. Следует отметить, что содержание цинка в селективной среде (МПА) значительно повлияло на морфологию колоний авирулентной аэромонады. В контроле диаметр колоний не превышал 0,5 см, при 5 и 20 мг/л $ZnSO_4$ их размеры увеличились до 0,6-0,8 см, а при 10 мг/л - от 1,5 до 3,0 см. Сульфид меди не оказал значительного влияния на морфологические признаки этого штамма: даже при 20 мг/л $CuSO_4$ размеры колоний были на уровне контроля - 0,5 см. У вирулентного штамма *A. hydrophyla* при всех концентрациях солей меди и цинка колонии были одинаковых размеров, соответствующие контролю. *S. freundii* при 5 мг/л $CuSO_4$ и 10, 20 мг/л $ZnSO_4$ стал более подвижно-активным, т. е. колонии срослись, образуя одну сплошную массу по всей чашке Петри.

При изучении влияния солей тяжелых металлов на изменение их патогенных свойств установили, что штамм вирулентных аэромонад сохранял свои патогенные свойства на уровне контроля, кроме ДНКазной активности, которая снизилась при 20 мг/л сульфидов меди и кадмия с 4,0 до 3,0 мм. У авирулентного штамма *A. hydrophyla* при 10 мг/л $ZnSO_4$, 5 и 10 мг/л $CuSO_4$ появилась слабовыраженная лецитиназная активность, на уровне 1 мм. У *S. freundii* при 10 мг/л сульфида кадмия зарегистрирована гемолитическая активность, отсутствующая в контроле.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о высокой металло-устойчивости природных микроорганизмов (аэромонад и цитробактера), связанной, по-видимому, с постоянно повышенным фоном данных

металлов в водах Волго-Каспийского бассейна. Установлена способность условно-патогенной микрофлоры сохранять и даже приобретать некоторые патогенные свойства при высоких концентрациях сульфидов тяжелых металлов (Cd, Cu, Zn).

3.8. Факторы, определяющие бактериальную контаминацию внутренних органов судака естественной популяции и в условиях искусственного выращивания

Болезни рыб, возникающие как в естественных, так и в искусственных водоемах, наносят значительный ущерб рыбному хозяйству. Особенно остро встает эта проблема в современном рыбоводстве. Так, ущерб от болезней при искусственном выращивании по отдельным возрастным группам рыб может составлять 100%. В естественных водоемах болезни рыб наблюдаются сравнительно редко, хотя их роль в регулировании численности популяций водных организмов довольно заметна. Многими авторами, как отечественными, так и зарубежными, особо подчеркивается, что при ухудшении среды обитания в естественной среде или нарушении биотехники выращивания снижается резистентность организма рыбы, тем самым, нарушая симбиотические взаимоотношения (паразит-хозяин) с окружающей микрофлорой в сторону заболевания (Tanaka et al., 1992; Ganthier, 1993; Ларцева, 1998; Бычкова, 2002; Головина с соавт., 2003; Карасева, 2003)..

Бактериальная контаминация внутренних органов связана с температурным фактором среды и состоянием рыбы. В процессе эксплуатации прудов в случае неблагоприятного их санитарно-гигиенического состояния с ростом численности бактерий наступает момент, когда организм рыбы перестает справляться с растущей агрессивностью среды, в результате чего в паренхиматозных органах появляются бактерии, что свидетельствует не только о высоком бактериальном прессинге воды, но и о снижении резистентности организма рыбы (Юхименко, 1987; 2000). В связи с этим целесообразно проведение комплексного санитарно-микробиологического исследования, необходимого для объективной оценки эпизоотического состояния рыбной популяции, особенно представителей тех, которые используются в рыбоводной практике.

Установлено, что зараженность судака дерматофибросаркомой в различных дельтовых и авандельтовых районах р. Волги колебалась от 0,2 (2001 г.) до 11,0% (1994 г.). Рыбы, пораженные этим заболеванием, по всем санитарно-ветеринарным требованиям должны выбраковываться, что часто не соблюдается в условиях промысла и при заготовке производителей для рыбоводных целей. Усугубляется положение и неблагоприятием самих прудов, которые десятилетиями не летуются и сильно заилены.

Бактериоценоз судака, больного дерматофибросаркомой, мало чем отличался от здорового. Исключение составили только эдвардсиеллы, кото-

рые редко, но встречались в здоровой рыбе, а у больной отсутствовали в микробном фоне. Мышцы больного судака в зоне поражения были инфицированы в 100 раз выше, чем у здоровой рыбы, а печень больных рыб - в 10 раз больше, чем здоровых. Симптоматично, что ДНКза аэромонад, обсеменяющих больную рыбу была в 2 раза ниже, чем у здоровых, что по видимому, связано с сильно ослабленным организмом пораженных особей. Как следствие, после зимовки в разные годы выживает около 40-60% заготовленных производителей.

При разгрузке зимовалов в начале апреля произошло существенное снижение (почти в 2 раза) в микробном профиле рыбы энтеробактерий, среди которых зимовку «пережили» цитробактеры, протеи и провиденсии, удельный вес которых снизился в 1,9; 1,7 и 1,6 раза по отношению к осенним показателям. Доминирующие изначально аэромонады и псевдомонады в органах судака после зимовки оставались на прежнем уровне, а количество флавобактерий увеличились в 1,2, бацилл - 2,2, грибов - в 2,4 раза против осенних значений. Следовательно, факторами, детерминирующими сохранение некоторых условно-патогенных микроорганизмов (аэромонад и псевдомонад), а также значительное увеличение грампозитивных бацилл и грибов, были абиотические факторы. Комплекс неблагоприятных факторов внешней среды естественно снизил резистентность рыб и обусловил повышение количественных показателей обсемененности печени и мышц рыб в 15 и 30 раз, соответственно, по сравнению с осенними данными.

Ахтериоз судака вызывает рачок *Achtheres percarum*, обуславливающий обширные повреждения жаберного аппарата, ведущие к нарушению газообмена и снижению сопротивляемости организма к вторичным заболеваниям, в частности, сапролегниозу. При высокой инвазированности жабр этими ракообразными происходит усиленное ослизнение, разрушение респираторного эпителия лепестков и, как следствие, нарушение газообмена (Ларцева с соавт., 2002)..

С 2000г. наблюдали изменение локализации ахтериса. Так у 72,0% инвазированных рыб, кроме жабр, были поражены ротовая полость и глотка. Вероятно это связано с продолжительной неблагоприятной токсикологической обстановкой на водоеме и перемещением паразита в более «спокойную» экологическую нишу (Ларцева с соавт., 2002).

В связи с этим научный и практический интерес представляли микробиологические исследования обсемененности жабр судака в динамике от заготовки производителей на тоне до окончания зимовки в прудах. В результате осенью во время заготовки производителей было установлено увеличение на два порядка микробной обсемененности жабр рыб, сильно пораженных патогенными рачками, по сравнению со слабо зараженными - $(6,4 \pm 0,3) \times 10^6$ против $(9,5 \pm 0,7) \times 10^4$ КОЕ/г. Следовательно, у пораженных рыб с высокой степенью инвазии мало шансов пережить зимовку.

Жабры перезимовавших рыб при одном уровне инвазированности (2-4 рачка) были обсеменены на порядок выше осенних показателей - $4,7 \pm 0,6 \times 10^5$, против $9,5 \pm 0,7 \times 10^4$ КОЕ/г. Увеличение в удельном весе микрофлоры бацилл и грибов в 2,2 и 2,4 раза, соответственно, в зимний период не могло не оказать негативного воздействия на организм рыб в целом. Следовательно, весенняя заготовка производителей этого вида рыб была бы предпочтительнее и проходила бы с меньшими потерями. Полученные нами результаты свидетельствуют о необходимости в любом случае проводить жесткий отбор производителей при их заготовке и просматривать жабры рыб на наличие рачков. При выявлении характерной картины заболевания сильно пораженных особей следует выбраковывать.

Таким образом, проведение бактериологического исследования позволило не только выявить основные группы микроорганизмов, участвующих в развитии патологических процессов у рыб, но и проследить их нарастание и изменение в динамике, а также выявить факторы, способствующие их сохранению и развитию.

Анализ полученных данных показывает, что оптимизацией и отработкой технологического процесса можно существенно снизить развитие септического процесса рыб, а иногда просто его не допустить. Результаты проведенных исследования послужили основанием для написания двух рекомендаций по профилактике дерматофибросаркомы и ахтериоза судака, которые отправлены на рассмотрение и утверждение в Департамент ветеринарии Минсельхоза РФ.

3.9. Результаты биопробы на белых крысах по влиянию на их организм мяса больного дерматофибросаркомой судака

Целью проводимой работы являлось выяснение патогенного воздействия мяса судака, пораженного дерматофибросаркомой (ДФС) на организм теплокровных животных.

В результате проведенных экспериментов было показано, что при включении в рацион питания теплокровных опухолевых тканей судака, истинных бластом не образуется. Однако, при этом происходило общетоксическое воздействие на организм. Патологические изменения, в основном, обнаруживались в кишечнике. В случае индуцированного иммунодефицита, явления токсического воздействия имели наиболее яркую картину. В патологический процесс вовлекались печень, почки и легкие крыс.

Таким образом, мясо больного судака представляет опасность для теплокровных при употреблении его в пищу, особенно на фоне угнетенного иммунитета. В связи с этим, рыбу, пораженную дерматофибросаркомой не рекомендуется употреблять в пищу и скармливать животным.

ВЫВОДЫ

1. Установлена устойчивая динамика количественных показателей микробных сообществ дельты Волги, эколого-микробиологическое состояние которой зависит от сезонных изменений, гидролого-гидрохимических режимов и трофики водоемов. Выделены районы с активной антропогенной нагрузкой - р. Волга в черте города, рр. Ахтуба и Бузан, характеризующиеся повышенным содержанием гетеротрофной микрофлоры и низкими значениями индекса трофности в течение всего вегетационного периода.

2. Количественно-качественный состав микрофлоры судака обусловлен образом его жизни, типом питания, способом и районами лова. Установлена прямая корреляция между общей микробной обсемененностью воды и рыбы. Одним из ведущих факторов в развитии микроорганизмов, определяющим ее видовой и количественный состав, является температура воды и состояние резистентности самой рыбы. Как следствие, обсемененность ее печени весной была выше, чем осенью.

3. Установлено, что в бактериоценозе гидроэкосистемы дельты Волги доминировали энтеробактерии (протеи и цитробактеры), аэромонады и флавобактерии. Всего из воды и рыбы выделены бактерии 15 родов, относящихся к 28 видам, а также несовершенные грибы. В исследуемой гидроэкосистеме сезонные изменения выделенной условно-патогенной микрофлоры (энтеробактерий и аэромонад) характеризовались активизацией в летне-осенние месяцы. Пики развития флавобактерии и псевдомонад приходились на весну и осень - периоды промысла в дельте Волги.

4. Наличие факторов патогенности (протеазы, лецитиназы, гемолизина и ДНКазы у аэромонад) с более высокими показателями у гидромикрофлоры по нарастающей от весны к осени, галотолерантность и множественная антибиотикорезистентность позволяют определить степень опасности для рыб и прогнозировать эпизоотическую, а также эпидемиологическую обстановку на водоеме.

5. Установлена способность условно-патогенной микрофлоры не только сохранять, но даже приобретать некоторые патогенные свойства при высоких концентрациях сульфидов тяжелых металлов кадмия, меди и цинка, а также изменять свою морфологию, в некоторых случаях значительно увеличивая размеры колоний, что обеспечивает выживание этих микроорганизмов в неблагоприятных экологических условиях.

6. В качестве индикаторных организмов экологического и санитарного состояния гидроэкосистемы дельты Волги целесообразно использовать бактерии *A. hydrophila*; родов *Proteus* и *Citrobacter*.

7. Факторами, определяющими распространенность условно-патогенных бактерий и обсемененность ими органов и тканей судака являются:

- обсемененность воды в районах его обитания, антропогенная трансформация и эвтрофирование водоемов;
 - заболевания рыбы инфекционной и инвазионной природы (дерматофибросаркома и ахтериоз), снижающие резистентность ее организма;
 - нарушения биотехники разведения - отсутствие выбраковки больных особей при посадке производителей в пруды, антисанитарное состояние последних в комплексе инициируют повышенную микробную обсемененность рыбы и обуславливают ее высокий отход за период зимовки.
8. При включении в рацион крыс мяса, пораженного дерматофибросаркомой судака, у них отмечали патологические изменения сначала в тканях кишечника, а затем в тканях почек и легких.
9. В результате проведенных исследований подготовлены рекомендации по профилактике дерматофибросаркомы судака в естественных водоемах и по борьбе с ахтериозом судака в прудовых хозяйствах.

Список опубликованных работ по теме диссертации:

1. Ларцева О.В., Мижуева С.А. Разработка рациональных технологических приемов обработки сырья из промысловых рыб Волго-Каспия //Сб. тезисов докл. 49-ой студенческой научно-практической конференции. - Астрахань, 1999. - С. 45-46.
2. Лисицкая И.А., Болдырева Я.М., Ларцева Л.В., Ларцева О.В. Микрофлора судака и среды его обитания //Тез. докл. Всерос. Конф. молодых ученых "Рыбохозяйственная наука на пути в 21 век". Владивосток, 2001. - С. 100-101.
3. Егоров С.Н., Курапов А.А., Болдырева Я.М., Обухова О.В. Влияние волжского стока на санитарно-экологическое состояние водной экосистемы Северного Каспия //Тез. докл. Всерос. научно-практ. конф. «Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов». - Москва, 2003. - С. 40-41.
4. Болдырева Я.М., Обухова О.В., Лисицкая И.А. Особенности маркеров патогенности аэромонад, инфицирующих судака в дельте Волги в условиях антропогенного воздействия //Тез. докл. Всерос. научно-практ. конф. «Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов». - Москва, 2003. - С. 17-18.
5. Обухова О.В., Егоров С.Н. Эколого-микробиологический скрининг Волго-Ахтубинской поймы // Тез. докл. Межд. молодежи, конф. «Экологические проблемы крупных рек-3». - Тольятти: ИЭВБ РАН, 2003. - С. 208.
6. Обухова О.В. Эколого-микробиологические показатели водных экосистем Волго-Ахтубинской поймы // Тез. ежегод. научно-практ. конф. молодых ученых. - Астрахань, 2003. - С. 39.

№ - 8 0 8 8

Тип. АИСИ Зак. 260. Тир. 100 12.04.04 г.