

Динамика условно-патогенной микрофлоры воды и судака в дельте реки Волга

О. В. ОБУХОВА¹, Л. В. ЛАРЦЕВА², В. В. ВОЛОДИНА³, Л. М. ВАСИЛЬЕВА²

¹ Астраханский государственный технический университет
414056, Астрахань, ул. Татищева, 16
E-mail: obuhova-ov@yandex.ru

² Астраханский государственный университет
414056, Астрахань, ул. Татищева, 20а
E-mail: lartsevaolga@mail.ru

³ Каспийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства
414056, Астрахань, ул. Савушкина, 1
E-mail: vo-vik5@yandex.ru

Статья поступила 29.12.2016

Принята к печати 31.03.2017

АННОТАЦИЯ

На основе многолетнего микробиологического мониторинга (1995–2010 и 2014 гг.) воды и судака в различных акваториях дельты р. Волга выделены четыре доминирующие группы бактерий семейства Enterobacteriaceae, родов *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*. Приведены обобщающие результаты исследований по видовому составу микрофлоры воды и рыбы естественной популяции и при ее искусственном разведении. Установлено превалирование условно-патогенной микрофлоры в воде и рыбе над индикаторной. Показана роль температуры воды, обуславливающая сезонную цикличность микроорганизмов и факторы патогенности, определяющие их быструю адаптацию к обитанию в разных экологических нишах.

Ключевые слова: бактерии, вода, дельта р. Волга, рыба, температура воды, сезонная динамика, факторы патогенности.

Зарегулирование р. Волга начиная с 1955 г. и создание каскада водохранилищ значительно изменили качественные и количественные характеристики ее стока. Между тем волжский сток играет основную роль в формировании абиотических условий существования всех видов гидробионтов. Качество воды в дельте р. Волга и степень ее эвтрофиро-

вания определяется как результирующая между антропогенной нагрузкой в бассейне реки и пониженными процессами самоочищения в водохранилищах. Как следствие, в дельте р. Волга уже в течение нескольких десятилетий происходит снижение продукционных процессов и значительное усиление биохимического окисления органическо-

го вещества, стимулирующего рост бактериальной продукции [Горбунов, 1976; Катунин, 2014].

Патогенные и условно-патогенные микроорганизмы могут длительно персистировать в воде и различных гидробионтах, в частности, судаке, обитающем в пелагиали. Они обладают разнообразными метаболическими возможностями, высокой адаптивностью к широкому спектру факторов внешней среды: температуре, рН, солености, концентрации кислорода в воде и токсических веществ [Романенко, 1985; Azam et al., 1992; Rivkin et al., 1996; Simon, Wunsch, 1998; Обухова, 2004; Копылов, Косолапов, 2008].

Следовательно, широкое распространение микробных сообществ в гидроэкосистемах, в том числе условно-патогенных (УПБ), доказанная патогенность многих видов для животных и человека, свидетельствует об актуальности и информативной значимости микробиологических исследований, поскольку водоемы – это источники питьевой воды, что особенно важно в регионах с нарушенной экологией [Ларцева, 1998; Lemke, Leff, 1999; Бухарин, 1999; Анганова, 2012; Обухова, 2013].

Цель работы – изучение динамики распространения и таксономического состава условно-патогенных микроорганизмов в воде и рыбе (судаке) в дельте р. Волга.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования, направленные на изучение видового состава, распределения, эколого-микробиологических показателей воды и судака в местах его обитания проведены в 1995–2010 гг. В качестве основных районов исследования выбраны Главный, Гандуринский, Белинский банки, р. Бузан. Судак взят для санитарно-микробиологического анализа как обитатель пелагиали и его микробный пейзаж близок к биофилью гидромикрофлоры, а также является объектом аквакультуры. За этот период отобрано и проанализировано 375 проб воды и 447 экз. судака, из которых выделено 615 и 3466 штаммов микроорганизмов соответственно. У рыб анализировали жабры, желудочно-кишечный тракт, паренхиматозные органы, мышцы и кровь.

В 2014 г. проведено аналогичное исследование 15 экз. рыбы (жабры, печень, мышцы, кишечник) и девяти проб воды в районе Главного банка. Из них выделено и проанализировано 37 и 187 культур бактерий соответственно.

Для изучения влияния абиотических факторов на формирование бактериоценоза судака в естественных и искусственных условиях проведен сбор микробиологического материала на т. “Глубокой” и Александровском осетровом рыбозаводе (АОРЗ) во время его заготовки для рыбозаводных целей, при посадке в зимовальные пруды в октябре и весной – апреле – перед нерестовой кампанией. Отобрано и проанализировано по 12 проб воды и 20 экз. рыбы (жабры, печень и мышцы), из которых выделено и изучено 60 и 180 штаммов бактерий соответственно.

Для оценки степени загрязнения водной среды, в качестве стандартных микробиологических методов выбраны следующие показатели: общее количество бактерий на мембранных фильтрах методом ультрафильтрации по А. С. Разумову; количество сапрофитных бактерий, растущих на высококонцентрированных питательных средах, численность олигокарбофильной микрофлоры определяли на рыбопептонном агаре, разведенном в 10 раз. Оценку состояния экосистемы по показателям развития бактериопланктона проводили согласно комплексной экологической классификации качества поверхностных вод суши [Жукинский, 1993].

Сбор материала осуществляли согласно принятым в ихтиобактериологии методикам [Лабораторный практикум, 1983]. Пробы отбирали с соблюдением правил асептики на обогатительные среды и доставляли в лабораторию для дальнейших работ по видовой идентификации качественного состава микрофлоры. Монотипность изолированных культур контролировали путем микроскопирования окрашенных по Грамму мазков. Выделенные монокультуры бактерий и грибов из воды и исследуемых органов и тканей рыбы инкубировали при 27 и 37 °С. Идентификацию выделенных бактерий и грибов проводили по морфологическим, биологическим и тинкториальным свойствам по определителям Д. Х. Берджи [1997] и В. И. Билай

и др. [1990]. Факторы патогенности УПБ – с использованием данных [Бойко, 1998, 2000; Бухарин, 1999; Анганова, 2012].

Статистическую обработку материалов проводили с использованием стандартов параметрического и непараметрического критериев, а также пакета компьютерного программирования Statistica for Windows. Значимые различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что для экосистемы дельты р. Волга характерна устойчивая сезонная динамика общей численности гетеротрофной микрофлоры. Ее максимум приходился на паводковый период (май), что обусловлено поступлением в водоем аллохтонной микрофлоры, в среднем составляя $7,8 \pm 0,2$; $4,8 \pm 0,4$ и $3,3 \pm 0,3$ млн кл./мл воды, соответственно, на р. Бузан, Главном и Гандуринском банках. В последующие месяцы отмечено снижение исследуемых показателей с минимумом в июле – августе (в среднем $2,3 \pm 0,6$ млн кл./мл) и незначительным увеличением в сентябре. Низкие количественные значения сапрофитов составляли в июне – июле в среднем $3,1 \pm 0,7$ тыс. кл./мл, что связано с высокой численностью в это время планктонных организмов. Показано, что бактерии используются консументами различных трофических уровней: водорослями, простейшими, ветвистыми рачками и др. [Горбунов, 1976; Porter, 1996; Бухарин, 1999; Копылов, Косолапов, 2008]. Пик численности сапрофитов отмечен в сентябре – октябре и достигал в среднем на р. Бузан и русле р. Волга $23,3 \pm 3,4$ и $16,3 \pm 3,1$ тыс. кл./мл соответственно. Коэффициент соотношения количества олигокарбофильных бактерий к численности сапротрофов показал небольшие значения индекса трофности с пиком развития в июле – августе в водотоках дельты р. Волга: на р. Бузан – $7,5 \pm 0,6$; на р. Волга – $6,6 \pm 0,3$; на Гандуринском и Главном банках – $13,4 \pm 0,9$ и $9,8 \pm 0,9$ ($p < 0,05$) соответственно. Осенью, в октябре установлено постепенное снижение численности олигокарбофильных бактерий. На р. Бузан индекс трофности не превышал $2,3 \pm 0,1$, а на Главном и Гандурин-

ском банках – $5,4 \pm 0,3$ и $5,9 \pm 0,3$ соответственно ($p < 0,05$). По шкале экологических модификаций [Абакумов, 1992] определены зоны наибольшего антропогенного воздействия на гидроэкосистему дельты р. Волга. Весной, во время половодья, отмечено увеличение биогенной нагрузки аллохтонного происхождения, что в конце вегетационного периода определило ухудшение качества вод в русле р. Волга до сильно загрязненной, а нижней зоны дельты – до умеренно-загрязненной – это α -мезосапробная зона, что согласуется с ранее проведенными исследованиями [Горбунов, 1976; Катунин, 2014].

Учитывая повышенное содержание гетеротрофной микрофлоры, низкие индексы трофности в течение всего вегетационного периода, а также максимальную численность бактериопланктона, особенно во время половодья, исследуемые водотоки по степени загрязнения и антропогенного напряжения можно представить в убывающей последовательности: р. Волга > р. Бузан > Гандуринский банк > Главный банк [Обухова, 2004].

В природных экосистемах популяции микроорганизмов в большинстве случаев представляют собой различные ассоциации, находящиеся в конкурентной борьбе за какой-либо фактор среды [Литвин, Пушкарева, 1994; Бухарин, Литвин, 1997; Бухарин, 1999]. Между тем качественный состав микрофлоры может являться показателем степени нарушения экологического равновесия бактериоценоза водной среды под влиянием антропогенного пресса. Последний, в сочетании с природно-климатическими и гидрологическими особенностями обуславливает превалирование в гидроэкосистемах условно-патогенной микрофлоры над индикаторными *E. coli* и бактериями рода *Salmonella* [Виноградова, Пархомчук, 1991; Ларцева, 1998; Лисицкая, 2008; Stitsbergen et al., 2009; Анганова, 2012; Обухова, 2013].

Результат многолетнего микробиологического мониторинга воды и судака в дельте р. Волга показал наличие в этих биотопах значительного видового разнообразия условно-патогенной микрофлоры. Его спектр представлен 11 видами семейства Enterobacteriaceae: роды *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*. В семействе *Vibrio*-

Т а б л и ц а 1
Доля различных родов, выделенных из воды и рыбы, в структуре семейства Enterobacteriaceae

Микрофлора	Процент штаммов	
	вода	рыба
<i>Citrobacter</i>	24,0 ± 0,8	22,3 ± 0,3
<i>Proteus</i>	28,0 ± 0,7	30,6 ± 0,6
<i>Enterobacter</i>	12,0 ± 0,4	17,0 ± 0,4
<i>Edwardsiella</i>	10,0 ± 0,4	7,1 ± 0,4
<i>Providencia</i>	7,3 ± 0,4	13,4 ± 0,5
<i>Escherichia</i>	5,3 ± 0,8	4,2 ± 0,8
<i>Salmonella</i>	3,3 ± 0,4	2,6 ± 0,8
<i>Klebsiella</i>	3,3 ± 0,4	0,1 ± 0,8
<i>Morganella</i>	6,7 ± 0,4	2,7 ± 0,4

пасае отдифференцировано шесть видов рода *Aeromonas*; в семействе Pseudomonadaceae – пять видов рода *Pseudomonas*; в семействе Neisseriaceae – по одному виду из родов *Acinetobacter* и *Moraxella*; в семействе Bacillaceae – один представитель – *Bacillus* sp. Среди видов с невыясненным систематическим положением зарегистрирован один вид рода *Alcaligenes* и четыре вида рода *Flavobacterium*. Микофлору представляли грибы родов *Aspergillus*, *Fusarium* и *Candida*. Установлено, что в бактериоценозе воды и рыбе доминировали представители семейства Enterobacteriaceae, родов *Aeromonas*, *Pseudomonas* и *Flavobacterium*.

За период проведенных исследований из воды выделено 150, из рыбы – 883 штамма энтеробактерий (табл. 1). Среди всей выделенной микрофлоры в воде они составляли 24,0 ± 0,8; в рыбе – 25,5 ± 0,9 % проб. Сред-

ди изолированных представителей этого семейства в анализируемых биотопах субдоминировали штаммы бактерий группы протей (протеи, морганеллы и провиденсии), составляя в воде и рыбе 42,0 ± 0,8 и 46,7 ± 0,9 % проб соответственно, в структуре семейства преобладали *Pr. mirabilis* и *Pr. vulgaris*. Другие доминанты исследуемых бактериоценозов – цитробактеры – составляли в воде и рыбе 24,0 ± 0,6 и 22,3 ± 0,8 % проб соответственно, среди которых чаще других в структуре этого рода преобладали штаммы *C. freundii*.

Кишечные палочки и сальмонеллы в анализируемом материале представлены единичными штаммами, регистрировали их в воде чаще в 1,3 раза, чем в рыбе; они выделялись преимущественно из жаберной ткани и желудочно-кишечного тракта рыб, что свидетельствует о продолжающемся антропогенном прессинге на гидроэкосистему дельты р. Волга и согласуется с ранее проведенными исследованиями в этом регионе [Ларцева, 1998; Обухова, 2004; Лисицкая, 2008; Обухова, 2013]. При этом отмечено, что штаммы доминирующих энтеробактерий (цитробактеры и бактерии группы протей) в микробиоценозе воды и рыбы на Главном банке высевались в 1,2–1,5 раза реже, чем в эвтрофированных акваториях Белинского и Гандуринского банков и р. Бузан ($p < 0,05$; $r = 0,84$), в которые впадают водотоки с урбанизированных территорий.

Основными биотопами всех изолированных штаммов энтеробактерий (в структуре семейства) оказались желудочно-кишечный

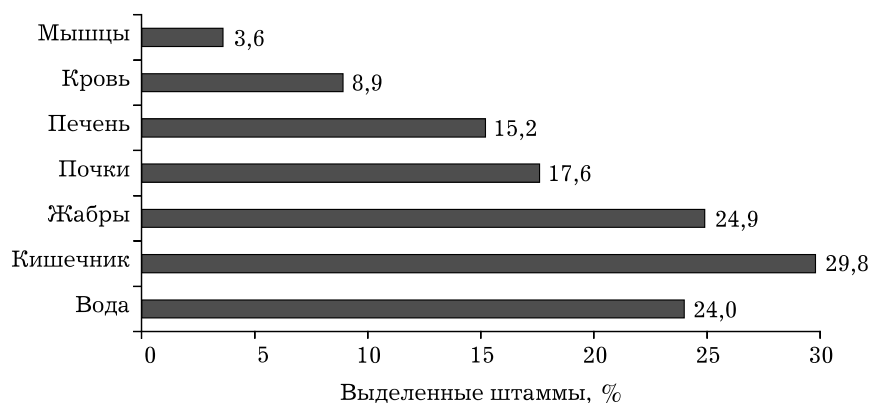


Рис. 1. Частота встречаемости энтеробактерий в различных органах судака и водной толще

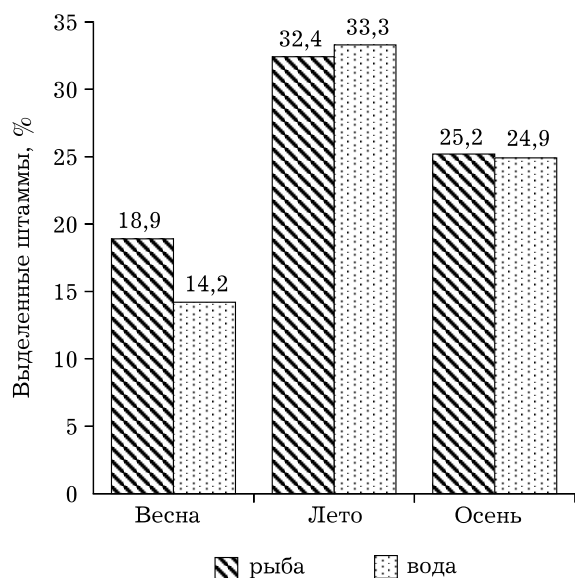


Рис. 2. Сезонные изменения доли штаммов энтеробактерий, выделенных из воды и рыбы

тракт и жабры (рис. 1), высеваемость из них достоверно выше, чем во внутренних органах рыб.

Установлено, что бактерии этого семейства имели четко выраженную сезонную цикличность, достигая своего максимума летом с небольшим спадом осенью, в октябре (рис. 2). При этом в летний и осенний периоды в воде доминировали бактерии группы протей, составляя $18,7 \pm 0,6$ и $14,1 \pm 0,9$ проб; в рыбе – $15,5 \pm 0,6$ и $17,8 \pm 0,7$ проб. Такая же тенденция выявлена у штаммов цитробактеров; в воде они составляли $10,6 \pm 0,7$ и $10,0 \pm 0,5$ проб соответственно по сезонам года. Следовательно, доминан-



Рис. 3. Частота встречаемости аэромонад в различных органах судака и водной толще

Т а б л и ц а 2

Доля различных видов, выделенных из воды и рыбы, в структуре рода *Aeromonas*

Вид аэромонад	Процент штаммов	
	вода	рыба
<i>Aeromonas</i> sp.	$20,0 \pm 0,9$	$22,6 \pm 0,8$
<i>A. hydrophila</i>	$26,4 \pm 0,8$	$26,7 \pm 0,2$
<i>A. sobria</i>	$20,0 \pm 0,9$	$18,2 \pm 1,1$
<i>A. caviae</i>	$17,3 \pm 1,2$	$17,8 \pm 0,9$
<i>A. schubertii</i>	$13,6 \pm 0,9$	$14,6 \pm 1,1$
<i>A. salmonicida</i>	$2,7 \pm 0,8$	–

ты этого семейства – цитробактеры и бактерии группы протей могут быть показателями санитарно-экологического состояния гидросистемы дельты р. Волга.

За период проведенных исследований выделено и проанализировано из воды 110, из рыбы – 847 штаммов бактерий рода *Aeromonas*. Как в воде, так и в рыбе доминировали штаммы одного вида – *A. hydrophila* (табл. 2). В удельном весе всей выделенной микрофлоры аэромонады составляли в воде $17,0 \pm 0,7$; в рыбе – $24,4 \pm 0,9$ проб.

Существенных различий встречаемости бактерий этого рода по районам исследований не выявлено. Исключение составляли Гандуринский и Белинский банки, где высеваемость аэромонад в воде и рыбе в 1,1–1,2 раза достоверно выше, чем на Главном в летне-осенние сезоны, что, по-видимому, обусловлено некоторыми абиотическими факторами среды (повышенная температура и эвтрофирование, замедленное течение воды и др.).

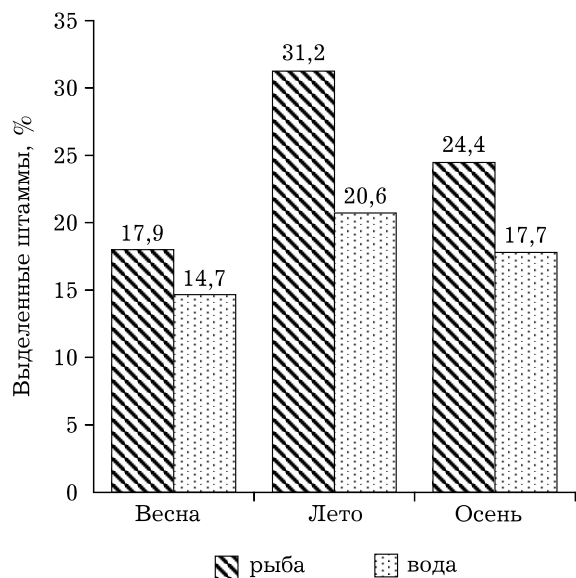


Рис. 4. Сезонные изменения доли штаммов аэромонад, выделенных из воды и рыбы

Основными биотопами аэромонад у исследуемых рыб являлись желудочно-кишечный тракт, жабры и почки, в которых их встречаемость оказалась выше ($p < 0,05$; $r = 0,87$), чем в крови и мышцах (рис. 3).

Анализ фактического материала позволил установить сезонную цикличность у всех штаммов аэромонад, циркулирующих в воде и рыбе (рис. 4). Летом отмечен максимум их встречаемости с незначительным преобладанием в рыбе, по сравнению с “водными” изолятами, и небольшим спадом их развития осенью. Это, по-видимому, связано с некоторыми вышеприведенными абиотическими факторами в совокупности с биотическими

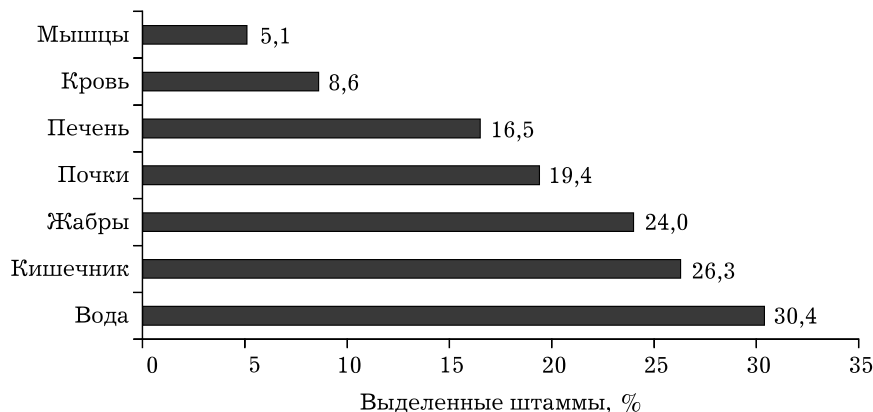


Рис. 5. Частота встречаемости псевдомонад в различных органах судака и водной толще

Т а б л и ц а 3
Доля различных видов, выделенных из воды и рыбы, в структуре рода *Pseudomonas*

Вид псевдомонад	Процент штаммов	
	вода	рыба
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	41,1 ± 0,7	36,5 ± 0,6
<i>Ps. alcaligenes</i>	33,2 ± 0,9	36,1 ± 0,7
<i>Ps. syringae</i>	13,7 ± 0,7	16,9 ± 0,9
<i>Ps. putida</i>	10,5 ± 0,9	10,3 ± 0,8
<i>Ps. aeruginosa</i>	1,6 ± 0,9	–

ми, т. е. трофическими связями судака – хищника, который в это время активно питается. Симптоматично, что пик кишечных инфекций в Астраханской обл., обусловленных аэромонадами, приходился на лето и раннюю осень [Бойко, 1998].

Следовательно, абиотические и биотические факторы обеспечивают благоприятные условия для развития в воде и рыбе бактерий рода *Aeromonas*, особенно летом и ранней осенью. На основании вышеизложенного, аэромонады могут использоваться в микробиологическом мониторинге водных объектов.

В формировании микробиоценоза гидроэкосистемы грамотрицательные неферментирующие бактерии родов *Pseudomonas* и *Flavobacterium* играют существенную роль, обуславливая гетерогенность микробных сообществ в дельте р. Волга в разные сезоны года.

За период проведенных исследований из анализируемого материала – воды – выделено 190; из рыбы – 720 штаммов бактерий

Т а б л и ц а 4

Доля различных видов, выделенных из воды и рыбы, в структуре рода *Flavobacterium*

Вид флавобактерий	Процент штаммов	
	вода	рыба
<i>Flavobacterium aquatile</i>	37,1 ± 0,7	25,0 ± 0,6
<i>Fl. capsilatatum</i>	22,9 ± 0,2	26,8 ± 0,2
<i>Fl. ferrugineum</i>	28,6 ± 0,6	29,3 ± 0,3
<i>Fl. rigense</i>	11,1 ± 0,2	10,7 ± 0,4

рода *Pseudomonas*. В воде они составляли 30,4 ± 0,6; в рыбе – 20,8 ± 0,6 % проб. В структуре рода в воде и рыбе доминировали штаммы *Ps. fluorescens* (табл. 3), при этом изоляты *Ps. alcaligenes* в структуре рода высеивались реже: в воде в 1,2 раза; в рыбе – на одном уровне. *Ps. aeruginosa* зарегистрирована только в воде единичными штаммами. Существенных различий встречаемости псевдомонад в анализируемых объектах и по районам исследований не выявлено.

Основными биотопами бактерий этого рода оказались желудочно-кишечный тракт, жабры и почки, в которых их высеиваемость выше ($p < 0,05$; $r = 0,81$), чем в крови и мышцах (рис. 5).

За период исследований из анализируемого материала – воды – выделено 70, из рыбы – 448 штаммов бактерий рода *Flavobacterium* (табл. 4). В удельном весе всей выделенной микрофлоры в воде они составляли 11,2 ± 0,5; в рыбе 14,0 ± 0,6 % проб. В структуре рода в воде доминировали штам-

мы *F. aquatile*, а в рыбе – *F. ferrugineum* (см. табл. 4). Существенных различий встречаемости всех штаммов флавобактерий в бактериоценозе воды и рыбы по районам исследования не установлено.

Основными биотопами всех штаммов флавобактерий являлись желудочно-кишечный тракт и жабры (рис. 6), из которых высеиваемость представителей этого рода оказалась выше, чем из внутренних органов и в 2,2 раза выше, чем выделенных из воды ($p < 0,05$; $r = 0,78$), что, по-видимому, связано с их “морским” происхождением и совпадением со временем весенних и осенних миграций судака из Северного Каспия в дельту р. Волга. Ранее в этой акватории моря различные штаммы флавобактерий регистрировали у рыб в 2,4 раза чаще, чем обитающих в пресноводной экосистеме [Лисицкая, 2008].

При анализе материала установлена четко выраженная сезонная динамика спадов и подъемов в развитии грамотрицательных неферментирующих бактерий родов *Pseudomonas* и *Flavobacterium*, обсеменяющих воду и рыбу в дельтовых районах. Для них характерны весенние и осенние максимумы развития (рис. 7, 8), совпадающие с промыслом судака.

Подобная тенденция характерна и для представителей рода *Flavobacterium*. Весенние и осенние максимумы встречаемости псевдомонад и флавобактерий в анализируемых биотопах обусловлены, по-видимому, их “морским” происхождением и попаданием в

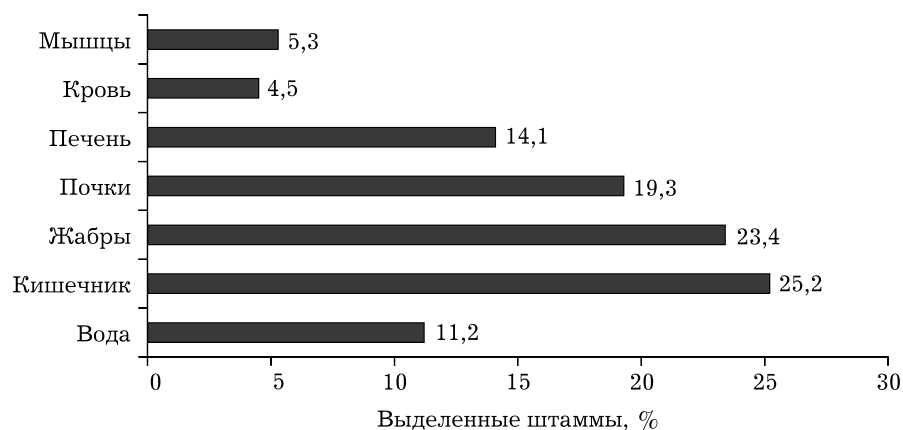


Рис. 6. Частота встречаемости флавобактерий в различных органах судака и водной толще

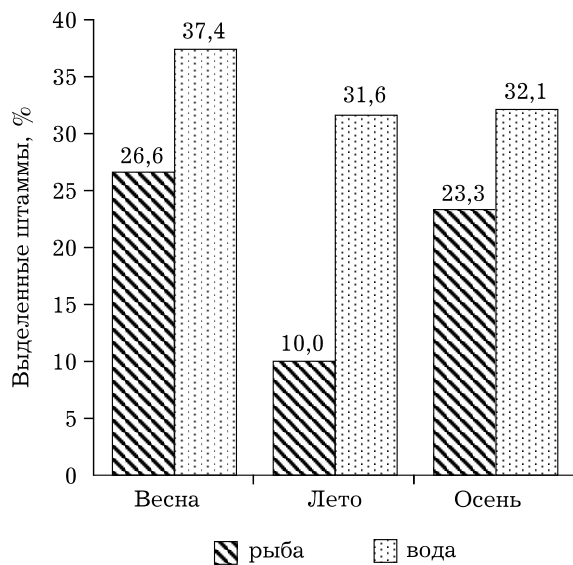


Рис. 7. Сезонные изменения доли штаммов псевдомонад, выделенных из воды и рыбы

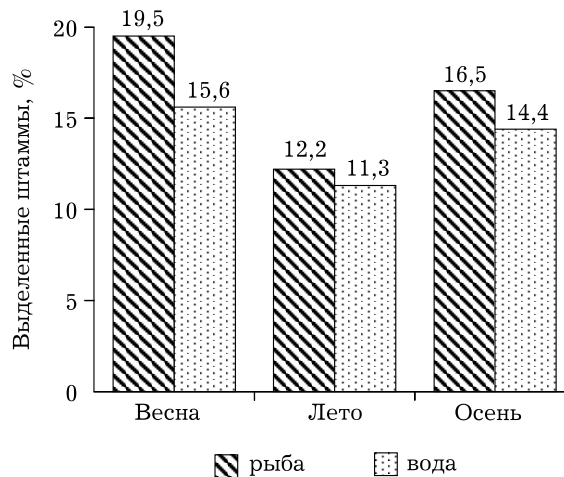


Рис. 8. Сезонные изменения доли штаммов флавобактерий, выделенных из воды и рыбы

пресноводную экосистему дельты р. Волга с нагонными морскими течениями и рыбой во время ее весенней и осенней миграций из Северного Каспия, что согласуется с ранее проведенными исследованиями [Ларцева и др., 2002; Лисицкая 2008].

Следовательно, полученные данные свидетельствуют о широком распространении условно-патогенной микрофлоры в воде природных водотоков дельты р. Волга и судаке – пелагическом хищнике, который является резервентом этих бактерий. На основании этого он может служить тест-объектом санитарно-экологического состояния гидроэкосистем.

Количественные и качественные характеристики микробиоценозов могут существенно изменяться, особенно под воздействием абиотических и антропогенных факторов среды [Azam et al., 1992; Pivkin et al., 1996; Lemke, Leff, 1999; Нетрусов, 2004; Анганова, 2012]. В пользу этого свидетельствуют данные микробиологического состояния судака естественной популяции и используемого в качестве производителей при искусственном его разведении.

Осенью (в октябре) проведены микробиологические исследования рыб и воды в период их заготовки перед посадкой на зимовку в пруды АОРЗ. Весной (в начале апреля) при их разгрузке сделано повторное микро-

биологическое обследование рыбы и воды по вышеописанным методам.

Фактические материалы, приведенные на рис. 9, показали, что в октябре, перед посадкой рыб естественной популяции в пруды, микробный пейзаж соответствовал осеннему сезону. В нем доминировали бактерии родов *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Flavobacterium* и представители семейства *Enterobacteriaceae*. В биопробе гидромикробиоты доминировали эти же ассоциации бактерий. Грибы, представленные изолятами родов *Alternaria*, *Aspergillus* и *Fusarium*, в исследуемых биотопах зарегистрированы единично, составляя в воде и рыбе $2,9 \pm 0,9$ и $2,4 \pm 0,8$ % проб, у которой контаминировали только жабры.

Анализ полученных результатов воды и рыбы в искусственных условиях (см. рис. 9) в начале апреля, при разгрузке зимовальных прудов позволил выявить существенное снижение в микробном биопробе энтеробактерий, среди которых зарегистрированы представители родов *Citrobacter*, *Proteus* и *Providencia*. Доминирующие изначально бактерии родов *Aeromonas* и *Pseudomonas*, в микробиоценозе воды и рыбы осенью в своих показателях остались почти на прежнем уровне. Однако высеваемость штаммов рода *Flavobacterium* в течение этого периода увеличилась в рыбе и воде в $1,2 \pm 0,7$ и $1,4 \pm 0,9$;

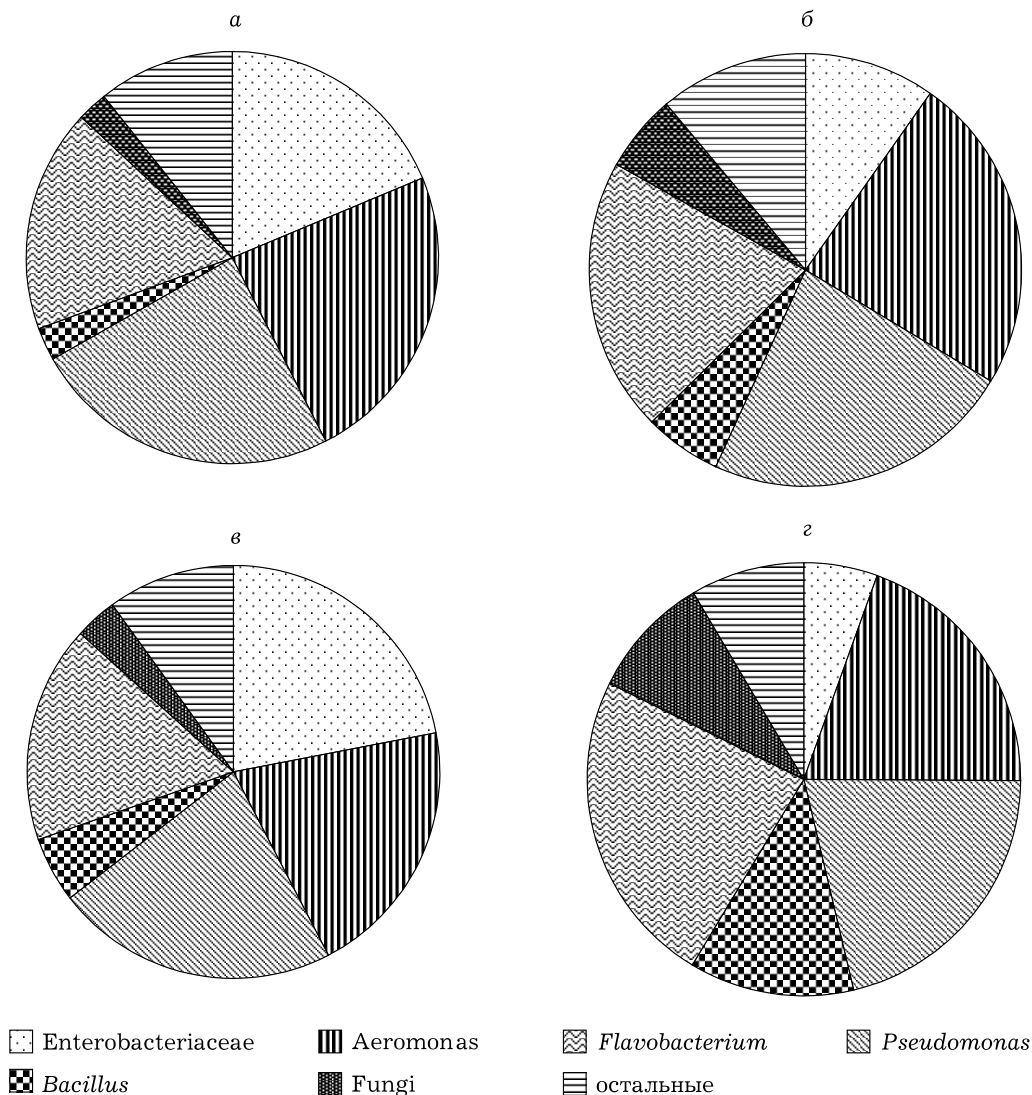


Рис. 9. Удельный вес условно-патогенной микрофлоры в воде и рыбе.

а – микробный пейзаж рыбы в осенний период; б – микробный пейзаж рыбы в весенний период; в – микробный пейзаж воды в осенний период; г – микробный пейзаж воды в весенний период

штаммов рода *Bacillus* – в $2,2 \pm 0,8$ и $2,4 \pm 0,8$; представителей микобиоты родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* – в $2,4 \pm 0,7$ и $2,8 \pm 0,8$ раза соответственно ($p < 0,05$; $r = 0,77$), по сравнению с осенними показателями. При этом следует отметить, что весной и осенью грибы контаминировали все исследуемые органы рыб только в виде спор и конидий; их активные структуры отсутствовали. Выявленная тенденция, очевидно, связана с пониженными температурами воды в осенне-зимний и ранне-весенний сезоны, недостаточным водообменом и кислородным режимом в прудах, покрытых зимой льдом,

а также заиленностью их ложа, обусловившими рост грампозитивной флоры и микобиоты в воде и рыбе. Следовательно, комплекс вышеприведенных неблагоприятных абиотических факторов среды определил микробиоценоз воды и рыбы в искусственных (прудовых) условиях.

Условно-патогенные микроорганизмы как возбудители сапронозных инфекций людей весьма адаптивны к различным и постоянно меняющимся абиотическим факторам среды благодаря своим персистентным/патогенным свойствам. Они выполняют двойную функцию, обеспечивая выживание бактерий как в орга-

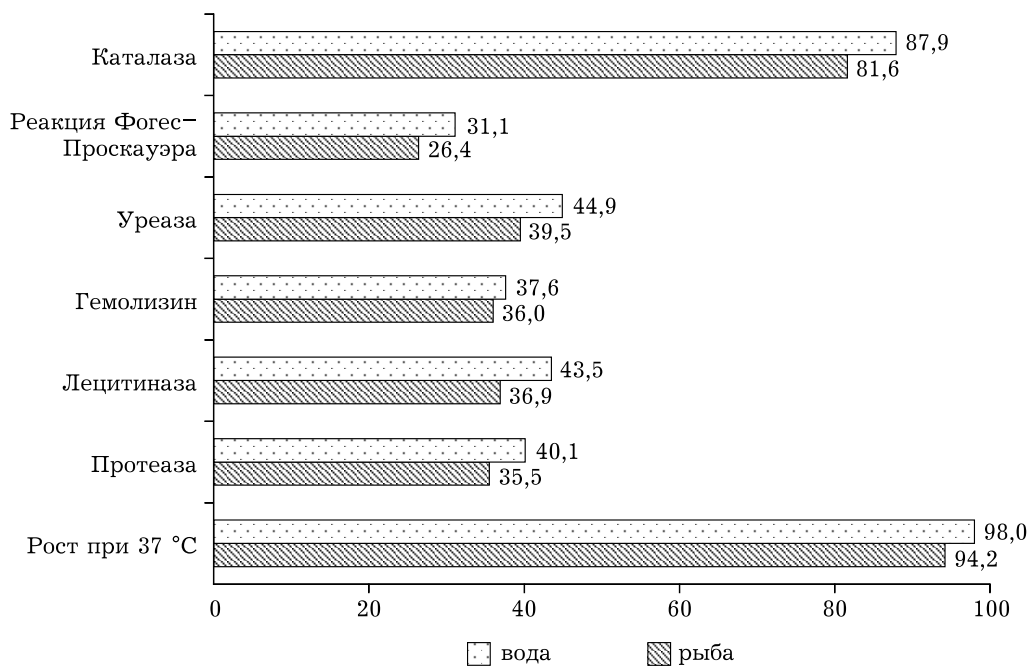


Рис. 10. Средние показатели факторов патогенности исследуемых энтеробактерий

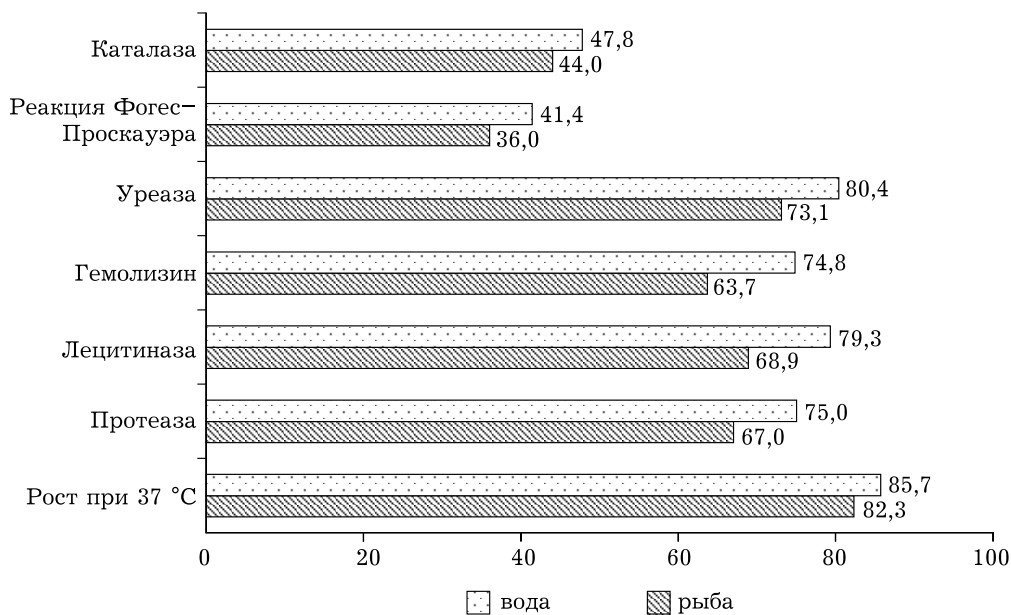


Рис. 11. Средние показатели факторов патогенности исследуемых аэромонад

низме хозяина, так и во внешней среде [Бухарин, Литвин, 1997; Бойко, 1998; Бухарин, 1999; Shank, Kolter, 2009; Анганова, 2012].

Фактические материалы, приведенные на рис. 10, 11, показали, что грамнегативные ферментирующие энтеробактерии и аэромонады, изолированные из воды и рыбы, об-

ладали целым набором факторов патогенности. Наиболее четко они оказались выражены у штаммов родов *Citrobacter*, *Proteus* и *Enterobacter*; среди выделенных аэромонад – у штаммов *A. hydrophila* и *A. sobria*. Минимальными показателями этих маркеров у энтеробактерий характеризовались штаммы ро-

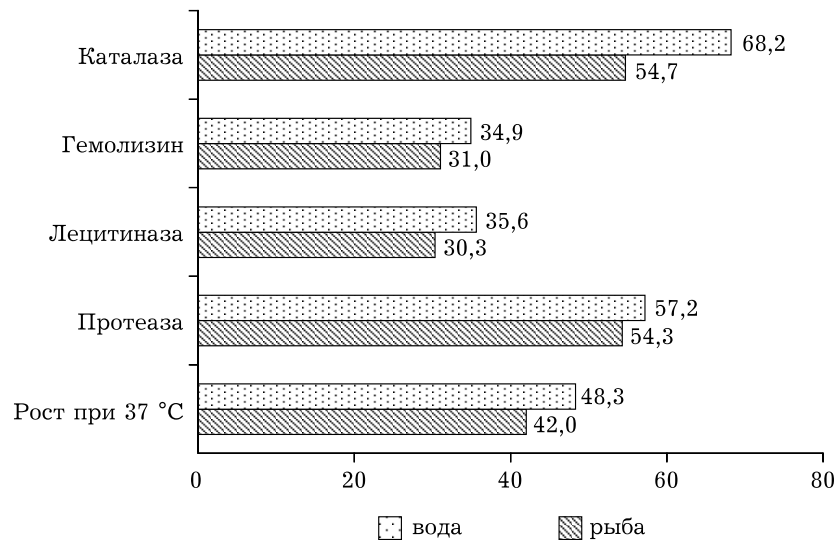


Рис. 12. Средние показатели факторов патогенности исследуемых псевдомонад

дов *Edwardsiella* и *Morganella*; у аэромонад – *A. caviae*. Средние показатели маркеров патогенности штаммов энтеробактерий и аэромонад, выделенных из воды и рыбы, характеризовались динамичным ростом от весны к осени в 1,2–1,3 раза ($p < 0,05$; $r = 0,78$). При этом штаммы, выделенные из воды, имели маркеры патогенности в 1,0–1,3 раза выше, по сравнению с “рыбными” во все сезоны года ($p < 0,05$; $r = 0,81$). Это, по-видимому, связано с тем, что микроорганизмы в воде

более подвержены прессу хищников и конкурентов, следовательно, обладают защитой благодаря своим факторам патогенности/персистенции. В организме хозяина – рыбы они избавляются от этого стрессового воздействия и с меньшими усилиями удовлетворяют свои пищевые потребности, что согласуется с литературными данными [Бухарин, Литвин, 1997; Бойко, 1998].

Следовательно, максимумы встречаемости энтеробактерий и аэромонад в воде и

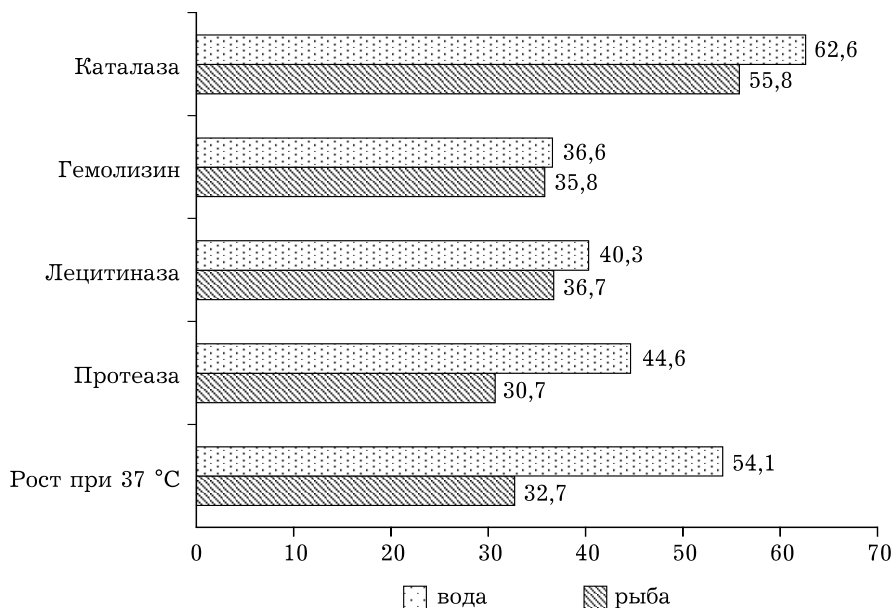


Рис. 13. Средние показатели факторов патогенности исследуемых флавобактерий

рыбе, в сочетании с высокими показателями факторов патогенности, обуславливают эпидемический потенциал в дельтовых районах р. Волга в летне-осенний сезон.

Грамотрицательные неферментирующие микроорганизмы родов *Pseudomonas* и *Flavobacterium*, выделенные из воды и рыбы, также обладали набором факторов патогенности (рис. 12, 13). Однако в отличие от энтеробактерий и аэромонад, они показали обратную зависимость контаминации исследуемых биотопов с показателями маркеров патогенности. Их минимальная встречаемость в воде и рыбе регистрировалась летом, но сочеталась с максимумом патогенных/персистентных значений и небольшим спадом их значений осенью, особенно по протеазе, лецитиназе и гемолизину.

Во все сезоны года штаммы псевдомонад и флавобактерий, изолированные из воды, имели персистентные признаки в среднем в 1,2 раза выше, чем “рыбные” ($p < 0,05$; $r = 0,79$). Среди выделенных псевдомонад все факторы патогенности наиболее четко проявлялись у штаммов *Ps. alcalidenes* и *Ps. fluorescens*; их минимальные показатели регистрировали у штаммов *Ps. putida*. Существенных различий по маркерам патогенности у разных видов и штаммов флавобактерий, персистирующих в воде и рыбе, не выявлено. Вероятно, в летний период в воде и рыбе циркулируют штаммы псевдомонад и флавобактерий с повышенными факторами патогенности, которые играют существенную роль в саморегуляции микробных популяций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показали, что для экосистемы дельты р. Волга характерна устойчивая динамика общей численности бактериопланктона и гетеротрофной микрофлоры. Так, общая численность микрофлоры являлась максимальной в паводковый период (май), а сапрофитов в сентябре – октябре, с превалированием на р. Бузан и русле р. Волга.

Коэффициент соотношения количества олигокарбофильных бактерий к численности сапротрофов показал, что наибольшие зна-

чения индекса трофности с пиком развития в июле – августе регистрировали на р. Бузан и Гандуринском банке.

Таким образом, по степени загрязнения и антропогенного напряжения с убывающей последовательностью отнесены: р. Волга > р. Бузан > Гандуринский банк > Главный банк.

Микробиоценоз воды и рыбы представлен совокупностью популяций микроорганизмов разных систематических групп, находящихся между собой в сложных биотических связях. Установлено, что в микробиоценозе воды и рыбы, на фоне богатого видового состава доминировали бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, родов *Aeromonas*, *Pseudomonas* и *Flavobacterium*. Микобиоту представляли грибы родов *Aspergillus*, *Fusarium* и *Candida*. Индикаторные *E. coli* и *Salmonella* sp. представлены единичными штаммами и выделялись преимущественно из жабр и желудочно-кишечного тракта рыб.

Грамотрицательные ферментирующие энтеробактерии и аэромонады достигали своего максимума развития в воде и рыбе летом с небольшим спадом осенью. Отмечено, что штаммы доминирующих энтеробактерий и аэромонад на Главном банке высевались в 1,2–1,5 раза реже, чем в эвтрофированных акваториях Белинского и Гандуринского банков и р. Бузан. Установлен динамичный рост в 1,2–1,3 раза от весны к осени всех показателей маркеров патогенности у этих бактерий.

Существенных различий встречаемости псевдомонад и флавобактерий по районам исследований не выявлено. При этом, все выделенные из воды и рыбы штаммы псевдомонад и флавобактерий имели весенние и осенние максимумы в своем развитии. Во все анализируемые сезоны года штаммы этих УПБ, изолированные из воды, имели факторы патогенности в среднем в 1,2 раза выше, чем “рыбные”.

Таким образом, полученные данные по распространенности условно-патогенной микрофлоры в воде и судаке, ее сезонной динамике и факторам патогенности могут использоваться в качестве базовой информации для мониторинга гидроекосистем и их санитарно-экологического благополучия.

В сборе микробиологического материала и его обработке принимали участие [И. А. Лисицкая], инженеры лаборатории ихтиопатологии КаспНИРХ Я. М. Болдырева, Г. А. Тонгушова, Л. Г. Рябухина, Н. И. Лыкова, за что авторы статьи выражают им свою искреннюю благодарность.

ЛИТЕРАТУРА

- Абакумов В. А. Руководство по гидробиологическому мониторингу пресноводных экосистем. СПб.: Гидрометеоиздат, 1992. 318 с.
- Анганова Е. В. Условно-патогенные энтеробактерии: доминирующие популяции, биологические свойства, медико-экологическая значимость: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Иркутск, 2012. 44 с.
- Берджи Д. Х. Определитель бактерий: в 2-х т. / под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита и др. М.: Мир, 1997. 799 с.
- Билай В. И., Курбацкая З. А. Определитель токсинообразующих микромицетов. Киев: Наук. думка, 1990. 236 с.
- Бойко А. В. Микробиологические и экологические аспекты паразитизма вибриофлоры и аэромонад: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Челябинск, 1998. 43 с.
- Бойко А. В. Факторы патогенности некоторых вибрионов и аэромонад // Микробиология, эпидемиология и иммунология. М., 2000. № 6. С. 104–107.
- Бухарин О. В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина, 1999. 366 с.
- Бухарин О. В., Литвин В. Ю. Патогенные бактерии в природных экосистемах. Екатеринбург: Изд-во УрО РАН, 1997. 276 с.
- Виноградова Л. А., Пархомчук Т. К. Комплексные санитарно-микробиологические критерии оценки качества водных объектов в условиях возрастающей антропогенной нагрузки // Гигиена и санитария. 1991. № 1. С. 24–26.
- Горбунов К. В. Влияние зарегулирования Волги на биологические процессы в ее дельте и биосток. М.: Наука, 1976. 219 с.
- Жуковский В. Н., Оксенок О. П., Олейник Г. Н., Кошелева С. И. Принципы и опыт построения экологической классификации качества поверхностных вод суши // Гидробиол. журн. 1981. Вып. 17, № 2. С. 38–49.
- Катунин Д. Н. Гидроэкологические основы формирования экосистемных процессов в Каспийском море и дельте реки Волги. Астрахань. Изд-во КаспНИРХ, 2014. 478 с.
- Копылов А. И., Косолапов Д. Б. Бактериопланктон водохранилищ Верхней и Средней Волги. М.: Изд-во СГУ, 2008. 377 с.
- Лабораторный практикум по болезням рыб / под ред. В. А. Мусселиус. М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. 296 с.
- Ларцева Л. В. Гигиеническая оценка по микробиологическим показателям рыбы и рыбных продуктов Волго-Каспийского региона: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 1998. 44 с.
- Ларцева Л. В., Проскурина В. В., Вьюшкова Л. А. Санитарно-эпизоотическая ситуация Волго-Каспийского региона на рубеже XXI в. // Болезни рыб в аквакультуре: обзорная информация. 2002. Вып. 1. 51 с.
- Лисицкая И. А. Бактериальные сообщества некоторых компонентов экосистемы дельты Волги и Северного Каспия: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Астрахань, 2008. 23 с.
- Литвин В. Ю., Пушкарева В. И. Факторы патогенности бактерий: функции в окружающей среде // Микробиология, эпидемиология и иммунология. М., 1994. С. 83–87.
- Нетрусов А. И. Экология микроорганизмов: учебник для студентов вузов. М.: Изд. центр "Академия", 2004. 272 с.
- Обухова О. В. Бактериоценоз воды и судака (*Stizostedion lucioperca*) в дельте Волги: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2004. 23 с.
- Обухова О. В. Микробиологические и экологические аспекты природно-очаговых сапронозов в гидроэкосистеме Волго-Каспийского региона // Юг России: экология, развитие, 2013. № 1. С. 93–96.
- Обухова О. В., Ларцева Л. В. Мониторинг антибиотикорезистентности энтеробактерий, выделенных от судака (*Stizostedion lucioperca* L.) и воды в местах его обитания // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. Сер. Рыбное хозяйство. 2013. № 1. С. 65–74.
- Романенко В. И. Микробиологические процессы продукции и деструкции органического вещества во внутренних водоемах. Л.: Наука, 1985. 295 с.
- Azam F., Smith D. C., Carlucci A. F. Bacterial transformation and transport of organic matter in the Southern California Bight // Prog. Oceanogr. 1992. N 30. P. 151–166.
- Lemke M. J., Leff L. G. Bacterial population in an anthropogenically disturbed stream: comparison of differed seasons // Microb. Ecol. 1999. Vol. 38. P. 234–243.
- Porter K. C. Integrating the microbial loop and the classic food chain into a realistic planktonic food web // Food webs Integration of patterns and dynamics. Chapman & Hall, 1996. P. 51–59.
- Rivkin R. B., Anderson M. R., Lajzerovicz C. Microbiological processes in cold oceans. 1. Relationship between temperature and bacterial growth rate // Aquat. Microb. Ecol. 1996. Vol. 10. P. 243–254.
- Shank A. E., Kolter R. New development in microbial interspecies signaling // Cuzr. Opin. Microbiol. 2009. Vol. 12, N 2. P. 205–214.

Simon M., Wunsch C. Temperature control of bacterio-
plankton growth in a temperate large lake // *Aquat.*
Microb. Ecol. 1998. Vol. 16. P. 119–130.

Stitsbergen J. M., Blazer V. S., Bowser P. R., Cheng K. C.
Finfish and aquatic invertebrate pathology resources
for now and the future // *Compar. Biochem. and*
Physiol. 2009. Vol. 149, N 2. P. 249–257.

Dynamics of Conditionally Pathogenic Microflora of Water and Pike Perch in the Volga Delta

O. V. OBUKHOVA¹, L. V. LARTSEVA², V. V. VOLODINA³, L. M. VASILYEVA²

¹ *Astrakhan State Technical University*
414056, Astrakhan, Tatischeva str., 16
E-mail: obuhova-ov@yandex.ru

² *Astrakhan State University*
414056, Astrakhan, Tatischev str., 20a
E-mail: lartsevaolga@mail.ru

³ *Caspian Research Institute of Fisheries*
414056, Astrakhan, Savushkina str., 1
E-mail: vo-vik5@yandex.ru

On the basis of long-term (1995–2010 and 2013–2014) microbiological monitoring of the various water areas of the Volga Delta and perch pelagic predator, four dominant groups of bacteria Enterobacteriaceae, *pp. Aeromonas, Flavo, Pseudomonas* were identified. Summarizing results of studies of species composition of microflora of water and fish from natural populations and artificial breeding are given. It was established that conditionally pathogenic microflora in the water and fish prevailed over the indicator one. The role of water temperature governing the seasonal cycles of microorganisms and pathogenicity factors that determine their fast adaptation to living in different ecological niches is shown.

Key words: bacteria, water, estuary, fish, water temperature, seasonal changes, factors of pathogenicity.