

УДК 639.3.09

ИССЛЕДОВАНИЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ФУРУНКУЛЕЗОМ, ВЫЗВАННЫМ ИНФИЦИРОВАНИЕМ *Aeromonas salmonicida*, У ЛОСОСЕВЫХ РЫБ ЮЖНОЙ ЧАСТИ ОСТРОВА САХАЛИН

© 2012 г. Е. В. Галанина*, А. В. Ломакина**

*Сахалинский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, 693023 Южно-Сахалинск, ул. Комсомольская, 196

**Лимнологический институт СО РАН, 664033 Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3

E-mail: galanina@sakhniro.ru

Поступила в редакцию 06.06.2011 г.

Проведены ихтиопатологические исследования производителей лососевых рыб юга о. Сахалин. Выявлены случаи заболеваний фурункулезом. Выделен возбудитель заболевания *Aeromonas salmonicida*. Изучены его морфологические, физиолого-биохимические и антагонистические свойства, определена вирулентность выделенных штаммов. Для подтверждения видовой принадлежности исследованных штаммов *A. salmonicida* был проведен молекулярно-генетический анализ.

Заболевание фурункулезом у рыб известно в Европе с 1894 г., в США — с 1902 г. В настоящее время это заболевание регистрируется в Испании, Дании, Японии, Корее, США, России (Nomura *et al.*, 1993; Pedersen *et al.*, 1994; Bowden *et al.*, 1999; Pirhonen *et al.*, 2003; Шкурина, 2004). Фурункулезу наиболее подвержены разводимые в искусственных условиях рыбы: паляя, ручьевая форель, радужная форель, а также все виды лососевых рыб естественных водоемов (Snieszko, 1974; Vullock, Roberts, 1980). Болезнь зарегистрирована как у пресноводных (сигов, линей, карпов, шук, окуней), так и у морских рыб (сельди, трески, палтуса и др.) (Hjeltnes *et al.*, 1995; Traxler, Bell, 1998).

Исследования фурункулеза и возбудителя этого заболевания *Aeromonas salmonicida* на о. Сахалин начались в середине семидесятых годов прошлого века. Впервые случай заболевания фурункулезом с выделением возбудителя *A. salmonicida* был зарегистрирован в 1973 г. в естественной популяции лососевых в р. Очепуха врачом ветеринарной лаборатории И Сун Дя (1975). С этого момента на Сахалине регистрируются единичные случаи заболевания производителей лососевых фурункулезом.

Фурункулез — это высококонтагиозная болезнь, представляющая большую опасность для культивируемых лососей, выращиваемых до товарного размера, вспышки которой могут приводить к 100%-ной гибели рыб. На Дальнем Востоке лососей не выращивают до товарного состояния, а выпускают в водоемы на естественный нагул (на ювенильной стадии развития) в возрасте 0+. Этот факт не учитывался, и регистрация заболевания с

выделением возбудителя фурункулеза на о. Сахалин привела в 80-е г. XX в. к наложению карантина почти на все лососевые рыбоводные заводы. Наложение карантина мешало нормальной работе лососевых рыбоводных заводов, поскольку препятствовало перевозке икры, которая осуществлялась в 70–80-х гг. XX в. не только в пределах области, но и по всему Советскому Союзу и за рубеж (США, Япония). Поэтому для изучения возбудителя заболевания и контроля эпизоотической ситуации не только на Сахалине, но и на всем Дальнем Востоке была создана Дальневосточная зональная ихтиопатологическая инспекция (ДЗИИ, Южно-Сахалинск). Инспекция функционировала с 1977 г. по 1988 г., а с 1992 г. по настоящее время специалисты ДЗИИ работают в лаборатории болезней рыб СахНИРО, где проводятся ихтиопатологические исследования.

Цель исследования — проведение анализа заболеваемости лососевых рыб юга о. Сахалин, идущих на нерест, и оценка степени их зараженности фурункулезом, изолирование возбудителя, описание его морфологических и физиолого-биохимических свойств, вирулентности, проведение молекулярно-генетической идентификации выделенных культур бактерий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С 1992 г. по 2008 г. в период нереста было клинически осмотрено 23120 экз. производителей горбуши и 5117 экз. кеты, выловленных из нерестовых рек юга о. Сахалин. Бактериологическому анализу подвергали внутренние органы рыб (почка, печень), содержимое язв и фурункулов. От производителей горбуши для микробиологиче-

ских исследований было отобрано 465 проб, от производителей кеты – 106 проб. В рыбоводные сезоны 1992–2008 гг. (с октября по июнь) на лососевых рыбоводных заводах обследованы икра и молодь, выполнено 228 посевов икры и 670 посевов молоди лососевых. Во время ската на реках Кура, Бахура, Фирсовка, Таранай, Брянка, Буюклинка была отобрана дикая молодь для ихтиопатологических исследований.

Бактериологические исследования проводили по общепринятым в ихтиопатологии методикам (Мусселиус и др., 1983). Первичные посевы материала от икры, молоди, производителей проводили на рыбо-пептонный агар (РПА) и рыбо-пептонный бульон (РПБ). Культурально-биохимические характеристики выделенных культур изучали с применением дифференциально-диагностических сред, систем индикаторных бумажных (СИБ) с набором из 16 основных тестов (НПО “Микроген”, Москва), а также микротестсистем API 20E для идентификации энтеробактерий и API 20NE для идентификации грамотрицательных палочек не энтеробактерий (bioMérieux, Франция). Видовую идентификацию бактерий проводили, используя Определитель бактерий Берджи (1997).

В 2008 г. были исследованы на вирулентность четыре штамма *A. salmonicida*, выделенные от производителей горбуши, выловленных на забойках трех лососевых рыбоводных заводов (Фирсовка, Таранайский, Лесной). Штаммы условно промаркированы: А, В, С, D. Штамм А выделен от горбуши с завода “Фирсовка”, штамм В от горбуши с завода “Лесной”, штаммы С и D – от горбуши с завода “Таранайский”. Штаммы А–С выделены от рыб с клиническими признаками бактериального заболевания, штамм D – от самки горбуши без клинических признаков. Вирулентность культур выявляли согласно методическим указаниям по определению патогенности аэроноад (МУ № 13-4-2/1116, 1997).

Антагонистические взаимоотношения микроорганизмов изучали по методике, описанной в Справочнике по микробиологическим и вирусологическим методам исследования (1982)

Молекулярно-генетическая идентификация выделенной культуры проведена в отделе микробиологии ЛИН СО РАН (Иркутск). Выделение ДНК проводили по методу Рошель (Rochelle, 1992). Для синтеза фрагмента гена 16S рРНК использовали праймеры широкой специфичности для этого локуса зубактерий (27F – AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG; 1350R – CAC GGG CGG TGT GTA CAA G). ДНК амплифицировали на амплификаторе БИС (Россия). Использовали состав реакционной смеси и условия амплификации ДНК, описанные ранее (Шубенкова и др., 2005).

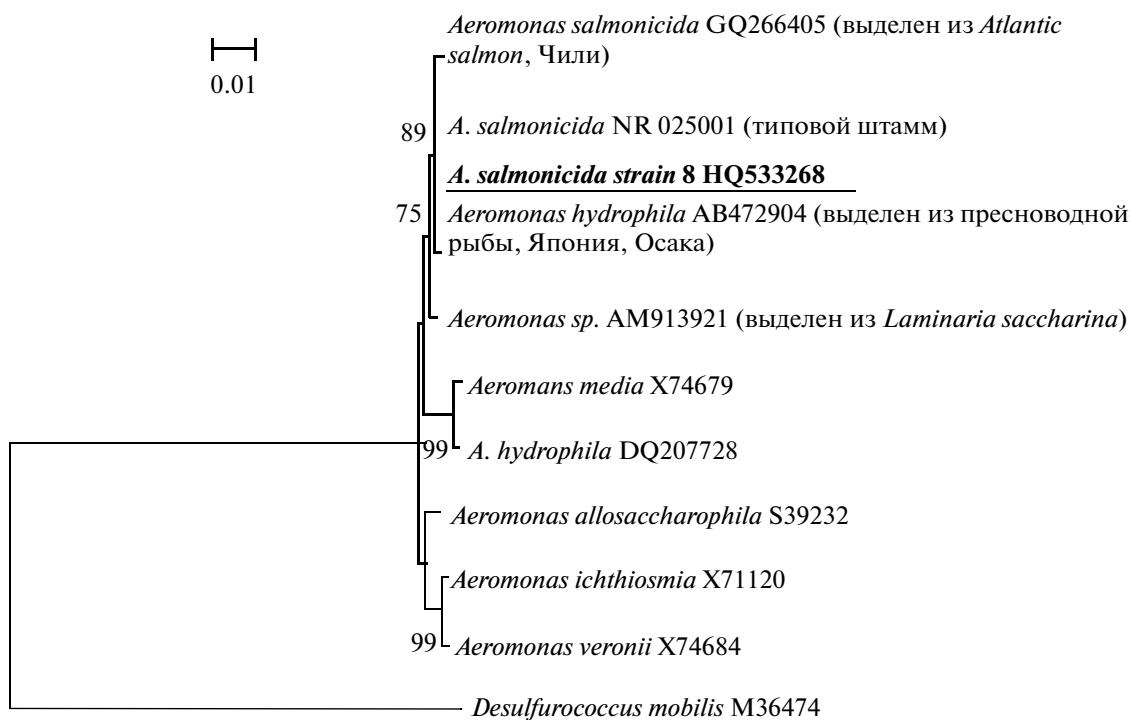
Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 1%-ном агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, и визуализировали в ультрафиолетовом свете. Очистку продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводили путем их экстракции из участков геля, содержащих продукты ожидаемой длины.

Секвенирование фрагментов гена. Для элюции нуклеотидного материала кусочки геля замораживали при -20°C , затем центрифугировали в микропробирке объемом 1.5 мл 20 мин на микроцентрифуге Eppendorf miniSpin (Германия) при 13.4 тыс. об./мин. Супернатант, содержащий ПЦР-продукт, отбирали и использовали для секвенирования. Реакцию Сэнгера производили с помощью автоматического секвенатора нуклеиновых кислот CEQ8800 (Backman, США) и 373A DNA Sequencer (Backman).

Филогенетический анализ. Полученная в ходе работы нуклеотидная последовательность фрагмента гена 16S рРНК была депонирована в базу данных GenBank под номером HQ533268. Ближайших гомологов для полученной последовательности находили с использованием поисковой программы BLAST сервера NCBI в базе данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>) (Altschul *et al.*, 1997). Редактирование последовательностей проводили в редакторе BioEdit (Thompson *et al.*, 1994), выравнивание – с использованием алгоритма CLUSTALW. Филогенетическое дерево было построено методом объединения ближайших соседей (NJ) с 2-параметровым алгоритмом Кимуры в программе MEGA версия 4.0 (Tamura *et al.*, 2007). Показатель достоверности порядка ветвления определяли на основании bootstrap-анализа 100 альтернативных деревьев. Для построения филогенетического дерева, кроме ближайших родственников из базы данных GenBank, использовали нуклеотидные последовательности типовых штаммов различных видов рода *Aeromonas* (GenBank Acc. No. X74679, X74684, X71120, DQ207728, S39232) для подтверждения принадлежности исследуемого штамма к виду *A. salmonicida*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За все время исследований *A. salmonicida* из икры и молоди лососевых рыб не была выделена ни разу. Возбудитель фурункулеза выделялся от нерестовой горбуши и кеты в реках эпизодически. Наиболее часто фурункулез регистрировали у горбуши юго-восточного побережья о. Сахалин (реки Очепуха, Бахура, Долинка) и в зал. Анива (реки Таранай, Лютога), у кеты в зал. Терпения (р. Буюклинка).



Филогенетическое дерево, построенное на основе анализа нуклеотидной последовательности фрагмента гена 16S рРНК чистой культуры *A. salmonicida* (жирный шрифт), выделенной из лососевых рыб, идущих на нерест. Масштаб: 1 нуклеотидная замена на каждые 100 нуклеотидов. Цифры – статистическая достоверность ветвления, определенная с помощью bootstrap-анализа альтернативных деревьев. Значения менее 75 не указаны.

Частота встречаемости половозрелых лососей, больных фурункулезом в период нереста на юге Сахалина с 1992 г. по 2008 г., представлена в табл. 1, 2.

В возникновении и развитии заболевания у лососевых рыб важную роль играют абиотические и биотические факторы среды. К абиотическим относятся: температура воды выше 20°C, которая способствует активному развитию возбудителя и наращиванию его численности, и низкая концентрация растворенного кислорода в воде (ниже 4.5 мг/л), приводящая к асфиксии рыб и ослаблению защитных функций организма. Быстрому распространению возбудителя заболевания способствуют также высокие концентрации лососей в реках в периоды маловодья и длительное выдерживание рыбы (до момента созревания половых продуктов) в бассейнах на рыбоводных заводах.

Известно, что при заходе в пресную воду лососи перестают питаться. Поэтому к основным биотическим факторам, приводящим к возникновению и развитию заболевания, относится ослабление защитных функций организма рыб вследствие нерестовых миграций. Проникновению возбудителя в организм рыб способствуют различные травмы от укусов морского зверя и крупных рыб, а также нарушение целостности кожных покровов вследствие паразитирования ракообразных, таких как *Lepeophtheirus salmonis*.

Согласно литературным данным, у нерестящейся рыбы с клиническими признаками заболевания *A. salmonicida*, как правило, обнаруживается в почках, печени, крови, фурункулах. В некоторых случаях из почек бактерии выделялись и от внешне здоровой рыбы (Юхименко и др., 1984). В ходе наших исследований *A. salmonicida* были выделены из тех же тканей и органов, а также с ястычной оболочкой икры. После промывки икры в стерильной воде и ее гомогенизации бактерии не выделялись ни разу. В период с 1992 г. по 2008 г. возбудитель фурункулеза был выделен семь раз у горбуши и один раз у кеты юго-восточного побережья, два раза у горбуши зал. Анива и четыре раза у кеты зал. Терпения (табл. 1, 2).

Основными диагностическими характеристиками *A. salmonicida* при определении видовой принадлежности являются неподвижность клеток, грамтрицательная окраска, положительный тест на оксидазу, образование коричневого диффундирующего в среду водорастворимого пигмента, окисление и ферментация глюкозы с образованием газа на среде Хью–Лейфсона, восстановление нитратов, гидролиз эскулина и желатина.

Выделенные нами штаммы по морфологическим характеристикам не отличались от ранее описанных в литературе выделенных от больных рыб из пресных и морских водоемов, а также от

штамма *A. salmonicida*, описанного в Определителе бактерий Берджи (1997). Клетки имели форму коротких палочек и коккоидов, окрашивались по Граму отрицательно, не обладали подвижностью, не имели капсул и спор. На РПА штаммы формировали круглые блестящие бежевого цвета непрозрачные колонии с ровным краем, выпуклым центром, диаметром от 0.5 до 2 мм на 2-е сут роста. Оптимальная температура роста культур была в пределах 18–25°C. Медленный рост отмечался при температуре 4°C, при 37°C рост отсутствовал.

Бактерии *A. salmonicida* относятся к факультативным анаэробам. Они обладают ферментной системой, позволяющей катаболизировать довольно широкий спектр субстратов (табл. 3).

Если по морфологическим характеристикам штаммы, выделенные от больной горбуши, не отличались от классического описания вида, то биохимическая активность имела ряд отличительных особенностей (табл. 3).

Выделенные культуры обладали низкой биохимической активностью по отношению к некоторым минеральным и углеводным субстратам. Так, чистые культуры часто не восстанавливали нитраты и не окисляли арабинозу; редко и слабо окисляли лактозу. Обычно бактерии *A. salmonicida* ферментируют углеводные субстраты без образования газа либо образуют его в небольших количествах. На среде с сахарозой они не проявляют сахаролитических свойств. Штаммы, выделенные от больной горбуши из рек юга о. Сахалин, выделяли газ при окислении глицерина и активно ферментировали сахарозу с образованием кислоты и газа. Ранее уже сообщалось о способности ферментировать сахарозу как об отличительной особенности физиологии сахалинских штаммов *A. salmonicida*, выделяемых от заболевших фурункулезом лососей (Юхименко и др., 1984).

Для подтверждения видовой принадлежности исследованного штамма *A. salmonicida* был проведен молекулярно-генетический анализ. Проанализированная нуклеотидная последовательность состояла из 1311 пар нуклеотидов и согласно сравнительному анализу фрагмента гена 16S рРНК была отнесена к таксону *Proteobacteria* (класс γ -*Proteobacteria*). Выделенный от заболевшей фурункулезом сахалинской горбуши штамм имел 99% сходства с культивируемой *A. salmonicida* (GenBank Acc. No. GQ266405), изолированной из организма *Atlantic salmon*, обитающего в пресной воде Чили (Godoy *et al.*, 2010). Кроме того, среди ближайших родственников исследованного штамма с 99%-ным сходством оказались представители вида *A. salmonicida* (NR025001), выделенные из загрязненной реки Матанза, Аргентина (Pavan *et al.*, 2000), *A. hydrophila* (AB472904), изолированные из пресноводной рыбы в Японии, а также *Aeromonas* sp. (AM913921), которые были

Таблица 1. Частота выделения *A. salmonicida* у горбуши в реках юга о. Сахалин в 1992–2008 гг., %

Год исследования	Клинически осмотрено рыб, экз.	Район исследования	
		зал. Анива	юго-восток
1992	1700	—	—
1993	700	—	—
1994	2610	—	0.3
1995	1650	0.2	—
1996	900	—	3.3
1997	1000	—	0.3
1998	1300	—	—
1999	1300	—	—
2000	1950	—	—
2001	1700	—	0.65
2002	3100	—	—
2003	1100	—	0.45
2004	400	—	—
2005	455	—	0.45
2006	1125	—	—
2007	880	—	0.68
2008	1250	0.24	—

Примечание. “—” — не выделен (для табл. 1, 2).

Таблица 2. Частота выделения *A. salmonicida* у кеты в реках юга о. Сахалин в 1992–2008 гг., %

Год исследования	Клинически осмотрено рыб, экз.	Район исследования	
		юго-восток	зал. Терпения
1992	500	0.2	—
1993	267	—	—
1994	200	—	—
1995	400	—	—
1996	300	—	—
1997	500	—	2.4
1998	300	—	—
1999	900	—	—
2000	300	—	—
2001	200	—	—
2002	400	—	—
2003	300	—	—
2004	200	—	—
2005	300	—	0.66
2006	300	—	—
2007	250	—	0.8
2008	300	—	0.3

Таблица 3. Сравнительная биохимическая характеристика штаммов *A. salmonicida*

Биохимический тест	Биохимические свойства <i>A. salmonicida</i>	
	по данным Определителя бактерий Берджи (1997)	штамм, выделенный от больной рыбы о. Сахалин
Окраска по Граму	—	—
Оксидаза	+	+
Подвижность	—	—
Окисление/ферментация глюкозы (на среде Хью—Лейфсона)	+/+, газ	+/+, газ
Пигментообразование	Коричневый водорастворимый	Коричневый водорастворимый (иногда с задержкой)
Образование индола	—	—
Образование H ₂ S	—	—
Гидролиз желатины	+	+
Гидролиз эскулина	+	+
Гидролиз мочевины	—	—
Проба с метиловым красным	+	+
Реакция Фогес—Проскауэра	—	—
Восстановление нитратов	+	+/- (вар.)
Фенилаланиндезаминаза	—	+
Аргининдегидролаза	+	+
Лизиндекарбоксилаза	—	—
Орнитиндекарбоксилаза	—	—
Рост в РПБ с 7.5% NaCl	—	—
Образование кислоты и газа из		
арабинозы	к	к (вар.)
лактозы	—	к (очень слабо, вар.)
маннита	к	кг
сахарозы	—	кг
дульцита	—	Не проводился
сорбита	—	То же
инозита	—	—
раффинозы	—	—
мальтозы	к	к
ксилозы	—	—
глицерина	к (вар.)	кг

Примечание. “+” — реакция положительная, “—” — реакция отрицательная, к — образование кислоты, кг — образование кислоты и газа, вар. — реакция переменная. РПБ с 7.5% NaCl — рыбопептонный бульон, содержащий 7.5% NaCl.

выделены из бурой водоросли *Laminaria saccharina* из Балтийского моря (Wiese *et al.*, 2009) (рисунк).

Изучение вирулентности выделенных от нерестовой горбуши штаммов *A. salmonicida* показало, что наиболее патогенным оказался штамм D, у которого зона деполимеризации при росте на ДНК-азном агаре составляла 3 мм. У штаммов А—С зона деполимеризации не превышала 2 мм, что соответствует “слабой вирулентности” (МУ № 13-4-2/1116,

1997). Из литературы известно, что гладкие S-формы колоний отличаются большей вирулентностью, чем шероховатые R-формы (Anderson, 1972). При первичном выделении наши штаммы росли как S-формы. После 4-месячного хранения все штаммы росли как R-формы и обладали “слабой вирулентностью” (зона деполимеризации не превышала 2 мм).

В литературе приведены сведения о том, что многие виды аборигенного микробного сообще-

ства водных экосистем и микроорганизмы, выделяемые из внутренних органов лососевых рыб, главным образом пищеварительного тракта, обладают высокой антагонистической активностью по отношению к бактериям *A. salmonicida* (Snieszko, 1974). Чувствительность к антагонистическому действию микроорганизмов воды в значительной степени затрудняет выделение возбудителя. По этой же причине его не всегда удается выделить из воды, где находится больная рыба. За последние 10 лет исследований фурункулеза на Сахалине *A. salmonicida* из речной воды, где находилась больная рыба, была выделена всего один раз.

Выделенная в 2008 г. культура возбудителя активно росла и развивалась на агаровой среде в присутствии девяти штаммов микроорганизмов, выделенных из внутренних органов нерестовой горбуши — *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *P. alcaligenes*, *Hafnia* sp., *A. hydrophila*, и речной воды — *P. fluorescens*, *Serratia marcescens*, *Flavobacterium* sp., *A. hydrophila*. При этом антагонистической активности со стороны бактерий из микробных сообществ речной воды и внутренних органов горбуши по отношению к *A. salmonicida* мы не наблюдали.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ заболеваемости лососевых рыб, идущих на нерест в реки юга о. Сахалин, показал, что из года в год отмечаются отдельные случаи заболевания фурункулезом. В ходе исследований отмечено, что возбудитель данного заболевания *A. salmonicida* выделялся как от рыб с клиническими признаками заболевания, так и без них. Выделенные штаммы характеризовались как “слабовирулентные” и “вирулентные”, по морфологическим характеристикам не отличались от ранее описанных в литературе, по биохимическим параметрам имели ряд отличий. Так, они выделяли газ при окислении глицерина и активно ферментировали сахарозу с образованием кислоты и газа. Молекулярно-генетический анализ с высоким процентом сходства (99%) подтвердил принадлежность исследуемых штаммов, выделенных от сахалинских лососей, к виду *A. salmonicida*.

Массового заболевания с летальным исходом производителей горбуши и кеты от фурункулеза в реках Сахалина и эпизоотий среди молоди на лососевых рыбоводных заводах с 1992 г. по 2008 г. не отмечено.

Авторы выражают благодарность Т.И. Земской, Е.В. Мамаевой за оказанную помощь в проведении молекулярно-генетического анализа, В.В. Парфеновой, А.В. Полтевой за ценные советы и замечания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- И Сун Дя. Фурункулез лососевых // Бюл. ВИЭВ. 1975. Вып. 20. С. 22–23.
- МУ № 13-4-2/1116. Методические указания по определению патогенности аэромонад по степени ДНКазной активности. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации. Департамент ветеринарии. Введ. 1997-12-09. 2 с.
- Мусселиус В.А., Ванятинский В.Ф., Вихман А.А. Лабораторный практикум по болезням рыб. М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1983. 296 с.
- Определитель бактерий Берджи / Под ред. Хоулта Дж., Крига Н., Снита П. и др. М.: Мир, 1997. Т. 1, 2. 799 с.
- Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. Биргера М.О. М.: Медицина, 1982. 464 с.
- Шкурин З.К. Микрофлора горбуши (*Oncorhynchus gorbusha* Walbaum) Сахалина в 2001 году // Болезни рыб. М.: Компания Спутник+, 2004. С. 200–206.
- Шубенкова О.В., Земская Т.И., Черницына С.М. и др. Первые результаты исследования филогенетического разнообразия микроорганизмов осадков южного Байкала в районе приповерхностного залегания газовых гидратов // Микробиология. 2005. Т. 74. № 3. С. 370–377.
- Юхименко Л.Н., Лобунцов К.А., Викторова В.Ф. и др. Итоги изучения *Aeromonas salmonicida*, выделенных от дальневосточных лососей // Болезни рыб и водная токсикология: Сб. науч. тр. М.: ВНИИПРХ, 1984. Вып. 40. С. 44–53.
- Altschul S.F., Madden T.L., Schaffer A.A. et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs // Nucl. Acids Res. 1997. V. 5. P. 3389–3402.
- Anderson D.P. Virulens and persistence of rough and smooth forms of *Aeromonas salmonicida* inoculated into coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) // J. Fish. Res. Board Can. 1972. V. 29. P. 204–206.
- Bowden T.J., Bruno D.W., MacLachlan P. et al. Susceptibility of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.) to infection with typical and atypical *Aeromonas salmonicida* // Aquaculture. 1999. V. 175. P. 1–13.
- Bullock A.M., Roberts R.V. Inhibition of epidermal migration in the skin of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, in the presence of achromogenic *Aeromonas salmonicida* // Fish Diseases. 1980. V. 3. № 6. P. 517–524.
- Godoy M., Gherardelli V., Heisinger A. et al. First description of atypical furunculosis in freshwater farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Chile // J. Fish Diseases. 2010. V. 33. № 5. P. 441–449.
- Hjeltnes B., Bergh Q., Wergeland H., Holm J.C. Susceptibility of Atlantic cod *Gadus morhua*, halibut *Hippoglossus hippoglossus* and wrasse (Libriidae) to *Aeromonas salmonicida* and the possibility of transmission of furunculosis from farmed salmon *Salmo salar* to marine fish // Dis. Aquat. Org. 1995. V. 23. P. 25–31.
- Nomura T., Yoshimizu M., Kimura T. An epidemiological study of furunculosis in salmon propagation in Japanese rivers // Fish Res. 1993. V. 17. P. 137–146.

- Pavan M.E., Abbott S.L., Zorzopulos J., Janda J.M. *Aeromonas salmonicida* subsp. pectinolytica subsp. nov., a new pectinase-positive subspecies isolated from a heavily polluted river // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2000. V. 50. P. 1119–1124.
- Pedersen K., Kofod H., Dalsgaard I., Larsen J.L. Isolation of oxidase-negative *Aeromonas salmonicida* from diseased turbot *Scophthalmus maximus* // Dis. Aquat. Org. 1994. V. 18. P. 149–154.
- Pirhonen J., Schreck C.B., Reno P.W., Pirhonen H.O. Effect of fasting on feed intake, growth and mortality of Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, during an induced *Aeromonas salmonicida* epizootic // Aquaculture. 2003. V. 216. P. 31–38.
- Rochelle P.A. DNA extraction for 16S rRNA gene analysis to determine genetic diversity in deep sediment communities // FEMS Microbiol. Lett. 1992. V. 100. P. 59–66.
- Snieszko S.F. Furunculosis of salmonidae // EIFAC Tech. Pap. 1974. P. 157–196.
- Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. MEGA3: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 // Mol. Biol. Evol. 2007. V. 24. P. 1596–1599.
- Thompson J.D., Higgins D., Gibson T.J. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice // Nucl. Acids Res. 1994. V. 22. P. 4673–4680.
- Traxler G.S., Bell G.R. Pathogens associated with impounded Pacific herring *Clupea harengus pallasii*, with emphasis on viral erythrocytic necrosis (VEN) and atypical *Aeromonas salmonicida* // Dis. Aquat. Org. 1998. V. 5. P. 93–100.
- Wiese J., Thiel V., Nagel K. et al. Diversity of antibiotic-active bacteria associated with the brown alga *Laminaria saccharina* from the Baltic Sea // Mar. Biotechnol. 2009. V. 11. P. 287–300.

Studies of Prevalence Rate of Furunculosis Caused by Infection by *Aeromonas salmonicida* in Salmonids of the Southern Part of Sakhalin Island

E. V. Galanina^a and A. V. Lomakina^b

^a Sakhalin Research Institute of Fishery and Oceanography, ul. Komsomol'skaya 196, Yuzhno-Sakhalinsk, 693023 Russia

^b Limnological Institute, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, ul. Ulan-Batorskaya 3, Irkutsk, 664033 Russia
e-mail: galanina@sakhniro.ru

Received June 6, 2011

Ichthyological studies of spawners of salmonids in the south of Sakhalin Island were studied. Cases of furunculosis disease were revealed. The agent of the disease *Aeromonas salmonicida* was isolated. Its morphological, physiological–biochemical, and antagonistic properties were studied, and the virulence of the isolated strains was determined. For supporting the species status of the studied strains of *A. salmonicida*, a molecular-genetic analysis was performed.