

Аквакультура

УДК 597.553.2:597–12

**Возбудитель фурункулёза *Aeromonas salmonicida*
у тихоокеанских лососей Камчатки**

Е.А. Устименко, Н.В. Сергеенко

Камчатский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («КамчатНИРО»), г. Петропавловск-Камчатский
E-mail: ustimenko.e.a@kamniro.ru

Обобщены данные многолетних бактериологических исследований по изоляции и идентификации возбудителя фурункулёза *Aeromonas salmonicida* от тихоокеанских лососей на Камчатке. Патоген изолировали от рыб из всех обследованных водоёмов Камчатки, преимущественно, нагульно-нерестовых озёр. Уровень его распространения в популяциях рыб не превышал 17%. Бактерии *A. salmonicida* чаще выявляли у половозрелых лососей, включая производителей на ЛРЗ. Патоген изолировали от нерки, кеты и кижуча, фиксируя, в основном, бессимптомное носительство. У чавычи возбудителя фурункулёза не регистрировали. Вирулентные свойства слабой или средней степени, по наличию фермента ДНКазы, проявили большинство выделенных бактерий. Вероятно, низкие температуры культивирования камчатских лососей являются основным сдерживающим фактором для вспышки острого фурункулёза у молоди на ЛРЗ. При попадании на завод высоковирулентного патогена у рыб возможно развитие вялотекущего заболевания без клинических признаков и с относительно низким уровнем смертности.

Ключевые слова: фурункулёз лососевых, *Aeromonas salmonicida*, встречаемость, вирулентность, тихоокеанские лососи.

DOI: 10.36038/2307-3497-2020-182-139-150

ВВЕДЕНИЕ

Фурункулёз — одно из наиболее известных в мире бактериальных заболеваний лососёвых, которое обычно проявляется в виде хронической или острой септицемии в зависимости от состояния здоровья, возраста и вида рыб, а также условий окружающей среды, особенно температуры [Bernoth, 1997; Toranzo, 2004]. Возбудителем фурункулёза является *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*. Болезнь регистрируют как в естественных водоёмах,

так и в рыбоводных хозяйствах, где она может стать причиной массовой гибели рыб.

В настоящее время это заболевание широко распространено в лососёвых хозяйствах Западной Европы, Северной Америки, Японии и других странах, как в пресных, так в солоноватых и морских водах [Post, 1987; Austin, Austin, 2016]. Вспышку фурункулёза в 1967 г. зарегистрировали в форелевом хозяйстве на территории современной Украины [Зозуля и др., 1967].

В природных популяциях тихоокеанских лососей *A. salmonicida* встречается в Японии, Корее, США и Канаде [Nomura, 1991 a, b; Kim et al., 2011; Kipp et al., 2020], в Дальневосточном регионе России — на Сахалине [И Сун Дя, 1975; Вялова, Шкурина, 2005; Галанина, Ломакина, 2012], в Хабаровском крае [Запличникова, Малетина, 1987].

На Камчатке бактерии *A. salmonicida* впервые выявили в 1989 г. у половозрелой кеты из Берингова моря с язвенными поражениями кожи, а в 1990 г. у кижуча из р. Быстрая (западное побережье) с аналогичными признаками [Wiklund et al., 1992; Сазонов и др., 1993]. С 2000 г., когда начали проводить мониторинг микрофлоры тихоокеанских лососей естественного и заводского происхождения, возбудителя фурункулёза регистрировали как у молоди, так и у половозрелых рыб [Сергеенко, 2012; Устименко, 2012].

Цель данной работы — определить уровень распространения патогена в популяциях камчатских лососей по результатам многолетних (2000–2018 гг.) бактериологических исследований и оценить степень возможного влияния возбудителя фурункулёза на объекты аквакультуры.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С 2000 г. проводили бактериологические исследования молоди и половозрелых тихоокеанских лососей (рода *Oncorhynchus*): кеты *O. keta*, нерки *O. nerka*, чавычи *O. tshawytscha* и кижуча *O. kisutch* из рек Паратунка, Авача, Большая и оз. Большой Вилюй. Здесь

расположены 5 камчатских лососёвых рыбободных заводов (ЛРЗ): Паратунский экспериментальный (ПЭЛРЗ), Кеткино (КЛРЗ), Озерки (ОЛРЗ), Малкинский (МЛРЗ) и Вилюйский (ВЛРЗ). Тихоокеанские лососи, нерестящиеся в этих водоёмах, как правило, используются и для заводского воспроизводства (далее — производители). Производителей обследовали непосредственно при закладке икры на ЛРЗ, кроме того, исследовали состояние здоровья подращиваемой молоди (табл. 1, 2).

В 2004–2018 гг. исследовали молодь и половозрелых нерку и кижуча из оз. Азабачье (восточное побережье Камчатки), нерку из оз. Начикинское и Курильское (западное побережье Камчатки), в 2006–2012 гг. — половозрелую нерку из оз. Дальнее (восточное побережье Камчатки) (табл. 1, 2).

Всего бактериологическими методами исследовали 13598 экз. тихоокеанских лососей разных возрастных групп, из них половозрелых лососей — 5886 экз., подращиваемой молоди из ЛРЗ — 5672 экз., молоди из естественных водоёмов — 2040 экз.

Молодь рыб из естественных водоёмов отлавливали мальковым неводом, половозрелых — плавной жаберной сетью. На ЛРЗ пробы от производителей брали на рыбободном стане одновременно с оплодотворением икры для воспроизводства, а молодь — из выростных бассейнов. Отбор проводили методом случайных выборок: от 30 до 60 экз., в отдельных случаях — от 2 до 20 экз.

Таблица 1. Количество половозрелых тихоокеанских лососей, обследованных в 2000–2018 гг.

Водоёмы	Половозрелые лососи				
	нерка	кета	кижуч	чавыча	всего
р. Большая	1160*	431*	30	494*	2115
р. Паратунка	34	321*	153*	–	508
р. Авача	71	363*	86	2	522
оз. Курильское	711	–	–	–	711
оз. Азабачье	775	–	6	–	781
оз. Начикинское	793	–	–	–	793
оз. Дальнее	205	–	–	–	205
оз. Большой Вилюй	–	30	221	–	251
Всего	3749	1145	496	496	5886

* В том числе, отобранные на ЛРЗ.

Таблица 2. Количество молоди тихоокеанских лососей разного происхождения, обследованных в 2000–2018 гг.

Водоёмы/ЛРЗ	Молодь рыб дикая/заводская				
	нерка	кета	кижуч	чавыча	всего
р. Большая/ОЛРЗ, МЛРЗ	155/1392	180/616	253/–	83/610	671/2618
р. Паратунка/ПЭЛРЗ	90/–	185/600	106/300	–/–	381/900
р. Авача/КЛРЗ	75/–	117/810	166/–	4/–	362/810
оз. Курильское	210/–	–/–	–/–	–/–	210/–
оз. Азабачье	165/–	–/–	–/–	–/–	165/–
оз. Начикинское	220/–	–/–	31/–	–/–	251/–
оз. Дальнее	–/–	–/–	–/–	–/–	–/–
оз. Большой Вилюй/ВЛРЗ	–/–	–/526	–/818	–/–	–/1344
Всего	915/1392	482/2552	556/1118	87/610	2040/5672

Рыб осматривали, отмечали внешние и внутренние признаки патологии. Вскрывали рыб по методам, рекомендованным отечественными и зарубежными исследователями [Лабораторный практикум..., 1983; Methods..., 1989]. Бактериологические посе­вы проводили из заднего отдела почек, а при наличии патологии — и из других внутренних органов и кожных поражений на универсальные питательные среды триптон-соевый агар (TSA) и триптон-соевый бульон (TSB). Посевы инкубировали при температуре 20–25 °С. Через 24–48 часов бульон TSB инокулировали на дифференциально-диагностическую среду СВВА (TSA с добавлением 0,01% бриллиантового синего) [Cirgiano, Bertolini, 1988] с последующей инкубацией при тех же условиях.

На основании культуральных (наличие роста при 23–25 °С и отсутствие при 37 °С) и морфологических признаков, а также результатов тестов на цитохромоксидазу, каталазу, подвижность, окисление/ферментацию глюкозы, отбирали культуры, предположительно, относящиеся к виду *A. salmonicida*. Для дальнейшей идентификации бактерий использовали тест-систему API 20E (Биоме­рье, Франция), согласно инструкциям производителя, изменив только температуру инкубации (23–25 вместо 37 °С).

Степень вирулентности *A. salmonicida* проверяли косвенным методом — путём измерения зоны деполимеризации на питательной среде, содержащей ДНК, которая

проявляется вокруг бактериальной колонии под воздействием 1N раствора HCL, при продуцировании микроорганизмами фермента дезоксирибонуклеазы [Сборник инструкций..., 1998].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Клинические признаки у рыб, инфицированных A. salmonicida

Язвенные поражения кожи различной степени — от поверхностных до проникающих в подлежащие ткани, выявили у 5 экз. лососей (4 экз. половозрелых и одного двухлетка), что составило 2,5% от всех особей, инфицированных *A. salmonicida*. У некоторых рыб отмечали шрамы на коже, асцитную жидкость в полости тела и отёчность заднего отдела почек. За весь период исследований фурункулоподобных образований и признаков геморрагической септицемии (кровоизлияний на внутренних органах и брюшных стенках) у камчатских лососей не регистрировали.

Характеристика бактерий A. salmonicida, выделенных от лососей

На универсальной среде TSA рост *A. salmonicida* проявлялся в виде точечных, гладких колоний кремового цвета, а на СВВА — тёмно-синих и фиолетовых. У 54% штаммов на 3–4 (иногда на 2–12) сутки регистрировали появление коричневого, диффундирующего в среду пигмента (рис. 1).



Рис. 1. Характерный рост *A. salmonicida* с образованием коричневого пигмента на среде TSA (слева), на CBVA (справа)

Микроорганизмы представляли собой грамотрицательные коккобациллы, размером 0,5–0,7×0,8–1,2 мкм, расположенные одиночно и парами. Они были оксидазоположительные, каталазоположительные, окисляли/ферментировали глюкозу с образованием кислоты, были неподвижны и не росли при 37 °С. Результаты биохимического тестирования показали отличие камчатских изолятов от эталонных штаммов [Brenner et al., 2005] по способности ферментировать сахарозу.

Вирулентные свойства, по наличию фермента дезоксирибонуклеазы, проявили большинство выделенных бактерий — зона деполимеризации составляла от 1 до 4 мм, что соответствует слабой или средней степени. Только один штамм — от производителя кеты, отобранного на ОЛРЗ в 2015 г., проявил высокую вирулентность — зона деполимеризации достигала 11 мм [Карелина, Устименко, 2016].

Распространение бактерий

A. salmonicida у лососей Камчатки

Рыб, инфицированных возбудителем фурункулёза, регистрировали во всех обследованных водоёмах Камчатки. Чаше заражённых лососей отмечали в нагульно-нерестовых озёрах. В реках рыб-бактерионосителей, в том числе среди заводских производителей, находили редко (табл. 3).

Патоген выявляли у половозрелой нерки, реже у кеты и в единичных случаях у кижуча — 3,8, 1,3 и 0,8%, соответственно. У чавычи *A. salmonicida* не изолировали ни разу (табл. 3).

У молоди лососей бактерий *A. salmonicida* за все время регистрировали трижды — у подращиваемой кеты на ОЛРЗ (1,5%), КЛРЗ (2,5%) и двухлетка кижуча из р. Авача (1,2%).

Всего за период исследований патоген изолировали от 199 рыб, что составило 1,5% от всех обследованных.

Таблица 3. Встречаемость (%) *A. salmonicida* у половозрелых тихоокеанских лососей из водоёмов Камчатки, включая производителей ЛРЗ, в 2000–2018 гг.

Водоёмы	Половозрелые лососи			
	нерка	кета	кижуч	чавыча
р. Большая	0,69*	2,1*	0	0*
р. Паратунка	0	1,56*	0	–
р. Авача	0	0,28*	0	0
оз. Курильское	2,67	–	–	–
оз. Азабачье	11,74	–	16,67	–
оз. Начикинское	1,51	–	–	–
оз. Дальнее	6,34	–	–	–
оз. Большой Вилюй	–	0	1,4*	–

* Включая производителей ЛРЗ.

Бактерий *A. salmonicida* чаще выявляли у половозрелых рыб, чем у молоди, а встречаемость патогена среди самцов и самок существенно не отличалась (рис. 2).

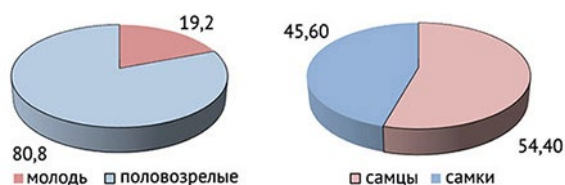


Рис. 2. Соотношение лососей, инфицированных *A. salmonicida*: А — по стадии развития, Б — по полу (половозрелые)

Патогенов регистрировали у производителей на всех камчатских ЛРЗ (рис. 3). Так как в 2005–2010 гг. обследовали половозрелых нерку и чавычу только на двух ЛРЗ и не изолировали от них возбудителя фурункулёза, то этот период на рис. 3 исключили.

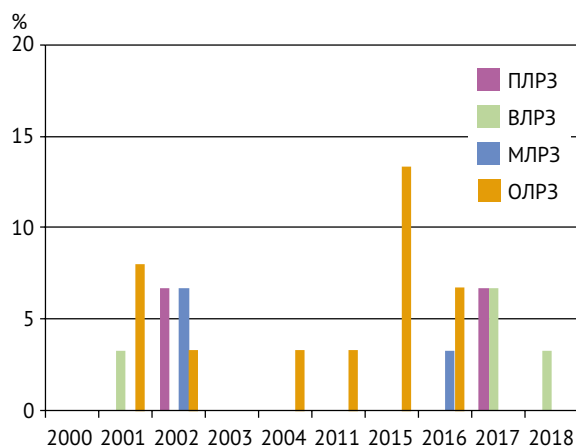


Рис. 3. Встречаемость (%) *A. salmonicida* у производителей на ЛРЗ Камчатки в 2000–2018 гг.

В межгодовом аспекте бактерий *A. salmonicida* чаще выявляли у производителей на ОЛРЗ (бассейн р. Большая) (рис. 3). На этом же заводе регистрировали и самую высокую их встречаемость, которая достигала 13,3% от выборки (2015 г.), а на других ЛРЗ — не превышала 6,7%.

ОБСУЖДЕНИЕ

У большинства обследованных рыб регистрировали, так называемую, скрытую инфекцию *A. salmonicida*, при которой от-

сутствуют клинические признаки заболевания. Такие рыбы играют важную роль в передаче возбудителей, являясь резервуаром и источником инфекции. Шрамы на коже, вероятно, были связаны с травмами, а скопление асцитной жидкости и отёчность почек — с нерестовыми изменениями, часто встречающимися у лососей в этот период. Бессимптомное течение инфекции у большинства рыб может быть обусловлено достаточно низкими температурами в местах нагула и в водоёмах Камчатки (в среднем около 6–8 °С). Известно, что при температуре воды менее 11 °С патологические изменения, характерные для фурункулёза, практически не развиваются [Kipp et al., 2020]. Оптимальный температурный диапазон для этого возбудителя 22–25 °С [Brenner et al., 2005]. Многие штаммы могут расти при температуре от 20 до 37 °С, а некоторые — при 6–18 °С [Kipp et al., 2020]. Фурункулёз является одним из заболеваний, сильно зависящих от влияния факторов окружающей среды [Gudmundsdottir, 1998].

Наличие язвенных поражений кожи, отмеченных нами у 2,5% рыб, характерно для заболеваний, вызванных атипичными штаммами *A. salmonicida*. Атипичными называют штаммы микроорганизмов, имеющие отличия от подвида *A. salmonicida* sp. *salmonicida*, считающегося типичным, по ряду фенотипических и биохимических признаков. Как известно, атипичный фурункулёз поражает многие виды рыб как в пресной, так и в морской воде и обычно коррелирует с изъязвлениями кожи [Wiklund, 1995; Gudmundsdottir, 1998; Lian et al., 2020]. Однако, до настоящего времени исследователи не пришли к единому мнению насчёт чётких различий механизмов заболеваний, вызванных типичными и атипичными штаммами *A. salmonicida*. Так, известны факты, когда атипичные штаммы вызывали классический фурункулёз и, наоборот, типичные штаммы были изолированы от рыб с поверхностными поражениями кожи [Bernoth, 1997; Gudmundsdottir, 1998; Menanteau-Ledouble et al., 2016].

По биохимическим свойствам камчатские изоляты не вполне совпадали с эталонными штаммами [Brenner et al., 2005]. Все

они отличались способностью ферментировать сахарозу. Эта особенность характерна не только для камчатских штаммов [Wiklund et al., 1992; Sergeenko, Ustimenko, 2005; Сергеев и др., 2013], но и для других изолятов *A. salmonicida* азиатского побережья Тихого океана: Японии [Nomura et al., 1993], Кореи [Fryer et al., 1988; Lim, Hong, 2020], Сахалина [Вялова, Шкурина, 2005], поэтому возникла гипотеза об их общем происхождении [Wiklund et al., 1992].

Благодаря параллельным посевам на универсальную среду TSA и дифференциально-диагностическую СВВА удалось выявить и тех бессимптомных носителей, у которых концентрация патогена во внутренних органах (почках) была низкой, и на универсальной среде бактериальный рост подавлялся быстро развивающейся сапрофитной микрофлорой. На среде СВВА белок поверхностного А-слоя, который присутствует у бактерий *A. salmonicida*, абсорбировал белково-специфичный краситель (СВВ) и колонии приобретали цвет от тёмно-синего до фиолетового, что облегчало изоляцию возбудителя из смешанных культур. Кроме этого, применение СВВА позволило выявить ахромогенные штаммы, которые не образовывали коричневатый диффундирующий пигмент, таких в наших исследованиях оказалось 46%, в том числе все штаммы, выделенные от заводской молоди лососей. Появление пигмента является основной фенотипической характеристикой при предварительной идентификации типичных *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* [Brenner et al., 2005]. Однако некоторые типичные штаммы его не продуцируют [Wiklund et al., 1993] либо этот процесс идёт очень медленно [Austin, Austin, 2016], поэтому без дифференциальной среды выявить их очень сложно.

Выделенные нами изоляты, кроме одного, не обладали высокой вирулентностью при тестировании на среде, содержащей ДНК, возможно потому, что они были выделены от рыб со скрытой или хронической инфекцией. Такой способ определения вирулентности штаммов считается косвенным и позволяет судить о потенциальной способности бактерий вызывать патологиче-

ский процесс. Для точного подтверждения патогенных свойств выделенных микроорганизмов необходимо проведение опытного заражения гидробионтов (биопробы). Экспериментальным путём была установлена высокая смертность (до 70%) молоди кеты при заражении через жабры штаммом *A. salmonicida* [Сергеев, 2012]. Используемый для заражения штамм был выделен от производителя кеты без внешних признаков патологии на ОЛРЗ в 2002 г. Эти данные свидетельствуют о наличии в популяциях камчатских лососей высоковирулентных штаммов *A. salmonicida*.

Мы обнаружили патоген у заводских сеголеток кеты без признаков патологии на двух ЛРЗ. Основной путь проникновения бактериальных патогенов на камчатские ЛРЗ — с водой из базовых водоёмов [Устименко, 2012]. Бактерии *A. salmonicida* способны до нескольких недель сохраняться в водной среде и донных отложениях. Кроме того, возможна передача возбудителя от производителей через заражённую икру при отсутствии дезинфекции половых продуктов [Cirigliano, Bullock, 2001]. Низкая температура воды (около 4 °С) на большинстве ЛРЗ Камчатки является сдерживающим фактором развития заболевания, поэтому даже при попадании на заводы патогена вспышка острого фурункулёза у подращиваемой молоди маловероятна, хотя возможно вялотекущее заболевание с относительно низким уровнем смертности. Так, результаты экспериментального заражения лососей показали повышенный уровень смертности при более высоких температурах воды после внутримышечных инъекций *A. salmonicida*. Среди инфицированных рыб, содержащихся при температуре 4 °С смертность составила 10% в течение 2 недель, а при 20 °С — 100% в течение 3 дней [Groberg et al., 1978].

Изоляция *A. salmonicida* от «дикого» двухлетнего кижуча с язвой зарегистрирована нами в единственном случае. Выявить фурункулёз у молоди в естественных водоёмах удаётся редко, т. к. заболевание у них обычно протекает в острой форме и до 80% заболевших рыб быстро погибает [Austin, Austin, 2016].

В результате наших исследований патоген регистрировали у всех обследованных видов тихоокеанских лососей, кроме чавычи. Вероятно, распространённость *A. salmonicida* в популяциях этого вида рыб на Камчатке крайне низкая. Хотя чавыча является одним из видов лососей, чувствительных к инфицированию возбудителем фурункулёза [Ogut, Reno, 2005]. Встречаемость бактерий у рыб этого вида в диких и культивируемых популяциях в Великих озёрах низкая или умеренная, а смертность редкая [Kipp et al., 2020].

Средний уровень распространения *A. salmonicida* среди половозрелых лососей на Камчатке не превышал 17%. Больше всего рыб-бактерионосителей выявили в оз. Азабачье, самом мелководном из всех исследованных. Вода в нём к августу-сентябрю прогревается до 20 °С. Гидрологические особенности водоёма и большое скопление лососей в период нереста создают благоприятные условия для горизонтальной передачи патогена. Встречаемость бактерий *A. salmonicida* в отдельные годы здесь достигала 33% [Устищенко, Сергеев, 2011]. В остальных озёрах рыб-бактерионосителей было значительно меньше, не более 7% от выборки.

Встречаемость патогена у заводских производителей во время всего периода исследований была сравнительно невысокой. Штаммы *A. salmonicida* чаще выделяли от производителей кеты и нерки на ОЛРЗ. Эти данные свидетельствуют о наличии в бассейне р. Большая природного очага инфекции и вероятности проникновения патогена на рыбобродные заводы (МЛРЗ и ОЛРЗ), расположенные в этом районе. Причём, температура воды, используемая при инкубации рыб на МЛРЗ несколько выше, чем на других заводах (6–9 °С), и регулируется за счёт подогрева поступающей речной воды термальной. Тем

не менее, низкие температуры культивирования камчатских лососей являются основным сдерживающим фактором для развития этого заболевания у молоди на ЛРЗ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Возбудителя фурункулёза *A. salmonicida* изолировали от лососей из всех обследованных водоёмов Камчатки, преимущественно, нагульно-нерестовых озёр. Уровень его распространения в популяциях рыб был невысокий — 1,2–2,5% у молоди и 0,28–16,67% у половозрелых лососей, включая производителей на ЛРЗ. В подавляющем большинстве случаев регистрировали бессимптомное носительство патогена.

Возбудителя фурункулёза выявили у кеты, нерки и кижуча. Все эти виды воспроизводят на камчатских ЛРЗ, в связи с чем необходимы мониторинговые исследования рыб для определения уровня встречаемости патогена в базовых для ЛРЗ водоёмах. Хотя вспышка острой формы фурункулёза у рыб на камчатских ЛРЗ маловероятна из-за низкой температуры воды, при попадании на завод высоковирулентного патогена у молоди лососей возможно развитие вялотекущего заболевания без клинических признаков и с относительно низким уровнем смертности (до 10%). Особенно это касается ОЛРЗ и МЛРЗ, расположенных в бассейне р. Большая, где существует природный очаг возбудителя.

Кроме этого, полученные данные по распространению *A. salmonicida* рекомендуем учитывать при проектировании новых рыбобродных заводов: выборе их географического расположения, источников водоснабжения, объектов разведения и параметров рыбобродного цикла, особенно температуры воды.

ЛИТЕРАТУРА

- Вялова Г.П., Шкурина З.К. 2005. Микрофлора и бактериальные болезни тихоокеанских лососей естественных популяций и в аквакультуре на Сахалине. Южно-Сахалинск: СахНИРО. 120 с.
- Галанина Е.В., Ломакина А.В. 2012. Исследования заболеваемости фурункулезом, вызванным инфицированием *Aeromonas salmonicida*, у лососевых рыб южной части острова Сахалин // Известия РАН. Сер. биол. № 5. С. 486–492.
- Заплетникова Э.Н., Малетина Л.В. 1987. Эпизоотология аэромоназа тихоокеанских лососей // Паразиты и болезни морских гидробионтов: сб. науч. трудов. Мурманск: ПИНРО. С. 55–62.
- Зозуля Е.А., Лодухин А.И., Лобуцов К.А. 1967. Фурункулез палии и форели // Ветеринария. № 5. С. 73–74.
- И Сун Дя З.Н. 1975. Фурункулез лососевых // Бюллетень ВИЭВ. М. Вып. 20. С. 22–23.
- Карелина К.А., Устименко Е.А. 2016. Патогенная и условно-патогенная микрофлора тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* на ЛРЗ Камчатки в 2015 г. // Ежегодн. межрег. науч.-практ. конф. Петропавловск-Камчатский: ФГБОУ ВО «КамГУ им. Витуса Беринга». Вып. 6. С. 210–215.
- Лабораторный практикум по болезням рыб. 1983. Под ред. Мусселиус В.А. М.: Лёгкая и пищевая промышленность. 295 с.
- Сазонов А.А., Пугаева В.П., Линева Г.П., Зубаха С.В. 1993. Случаи фурункулёза у кеты *Oncorhynchus keta* и кижуча *Oncorhynchus kisutch* на Камчатке // Исследования биологии и динамики численности промысловых рыб Камчатского шельфа. Вып. 2. С. 230–240.
- Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб. 1998. Под ред. Яременко Н.А. М.: Отдел маркетинга АМБ-агро. С. 114–174.
- Сергеенко Н.В. 2012. Бактериологические показатели лососей в естественных водоёмах Камчатки. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петропавловск-Камчатский: КамчатГТУ. 23 с.
- Сергеенко Н.В., Гаврюсева Т.В., Устименко Е.А., Бочкова Е.В., Овчаренко Л.В., Рудакова С.Л., Грицких Е.А. 2013. Видовой состав патогенов и их распространение у нерки в нагульно-нерестовых озёрах Камчатки // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. Вып. 29. С. 137–147.
- Устименко Е.А., Сергеенко Н.В. 2011. Возбудитель фурункулёза *Aeromonas salmonicida* у половозрелой нерки (*Oncorhynchus nerka* Walbaum) из оз. Азабачье // Вопросы рыболовства. Т. 12. № 3(47). С. 576–586.
- Устименко Е.А. 2012. Бактериальные инфекции у тихоокеанских лососей при искусственном воспроизводстве на Камчатке. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петропавловск-Камчатский: КамчатГТУ. 23 с.
- Austin B., Austin D.A. 2016. Bacterial fish pathogens, disease of farmed and wild fish. 6th edn. Dordrecht: Springer. 732 с.
- Bernoth E.M. 1997. Diagnosis of furunculosis: the tools // Bernoth E.M., Ellis A.E., Midtlyng P.J., Olivier G., Smith P. (eds.). Furunculosis: multidisciplinary fish disease research. Academic Press, San Diego, CA. P. 98–158.
- Brenner D.J., Krieg N.R., Garrity G.M., Staley J.T., Firm K. 2005. Bergey's manual of systematic bacteriology. V. 2. The Proteobacteria. New York: Springer. 304 p.
- Cipriano R.C., Bertolini J. 1988. Selection for virulence in the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* using Coomassie brilliant blue agar // J. of Wildlife diseases. V. 24. P. 676–678.
- Cipriano R.C., Bullock G.L. 2001. Furunculosis and other diseases caused by *Aeromonas salmonicida*. U.S. Geological Survey Fish Disease Leaflet. Leetown, USA. № 66. 33 p.
- Fryer J.L., Hedrick R.P., Park J.W., Hah Y.C. 1988. Isolation of *Aeromonas salmonicida* from masu salmon in the Republic of Korea // J. of Wildlife diseases. V. 24. P. 364–365.
- Groberg W.J., McCoy R.H., Pilcher K.S., Fryer J.L. 1978. Relation of water temperature to infections of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), chinook salmon (*O. tsawytscha*) and steelhead trout (*Salmo gairdneri*) with *Aeromonas salmonicida* and *A. hydrophila* // Canadian J. of Fisheries and Aquatic Sciences. V. 35. № 1. P. 1–7.
- Gudmundsdottir B.K. 1998. Infections by atypical strains of the bacterium *Aeromonas salmonicida* // Buvisindi. V. 12. P. 61–72.
- Kim J.H., Hwang S.Y., Son J.S., Han J.E., Jun J.W., Shin S.P., Park S.C. 2011. Molecular characterization of tetracycline- and quinolone-resistant *Aeromonas salmonicida* isolated in Korea // J. of veterinary science. V. 12. P. 201141–48.
- Kipp R.M., Bogdanoff A.K., Fusaro A., Sturtevant R. 2020. *Aeromonas salmonicida* Emmerich and Weible, 1890. Accessible via: <https://nas.er.usgs.gov/queries/greatlakes/FactSheet.aspx?SpeciesID=2353>. 24/07/2020.
- Lian Z., Bai J., Hu X., Lü A., Sun J., Guo Y., Song Y. 2020. Detection and characterization of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* infection in crucian carp *Carassius auratus* // Veterinary research communications. V. 44. P. 61–72.
- Lim J., Hong S. 2020. Characterization of *Aeromonas salmonicida* and *A. sobria* isolated from cultured salmonid fish in Korea and development of a vaccine against furunculosis // Fish Diseases. V. 43. P. 609–620.
- Methods for the microbiological examination of fish and shellfish. 1989. Ed. by Austin B. and Austin D.A. Scotland: Edinburgh EH1 1HX. 260 p.
- Nomura T., Yoshimizu M., Kimura T. 1991 a. Prevalence of *Aeromonas salmonicida* in the chum salmon (*Oncorhynchus keta*), pink salmon (*O. gorbuscha*), and

- masu salmon (*O. masou*) returning to rivers in Hokkaido // *Gyobyō Kenkyū*. V. 26 (3). P. 139–147.
- Nomura T., Yoshimizu M., Kimura T. 1991 b. Prevalence of *Aeromonas salmonicida* in the kidney of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) and masu salmon (*O. masou*) at various life stages // *Gyobyō Kenkyū*. V. 26 (3). P. 149–153.
- Nomura T., Yoshimizu M., Kimura T. 1993. An epidemiological study of furunculosis in salmon propagation in Japanese rivers // *Fisheries research*. V. 17. P. 137–146.
- Menanteau-Ledouble S., Kumar G., Saleh M., El-Matbouli M. 2016. *Aeromonas salmonicida*: updates on an old acquaintance // *Diseases of Aquatic Organisms*. V. 120(1). P. 49–68.
- Ogut H., Reno P.W. 2005. Evaluation of an experimental *Aeromonas salmonicida* epidemic in chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum) // *Fish Diseases*. V. 28. P. 263–269.
- Post G. 1987. Textbook of fish health. T.F.H. publ., Inc. Ltd. 288 p.
- Sergeenko N.V., Ustimenko E.A. 2005. Characterization of strains of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isolated from spawning salmon in fish hatcheries on Kamchatka // *Health and diseases of aquatic organisms: bilateral perspectives* / Cipriano R.C., Shchelkunov I.S. (Eds.). Shepherdstown, USA. P. 256–259.
- Toranzo A.E. 2004. Report about fish bacterial diseases // Alvarez-Pellitero P., Barja J.L., Basurco B., Berthe F., Toranzo A.E. (eds.). *Mediterranean aquaculture diagnostic laboratories*. Zaragoza: CIHEAM. P. 49–89.
- Wiklund T. 1995. Survival of «atypical» *Aeromonas salmonicida* in water and sediment microcosms of different salinities and temperatures // *Diseases of Aquatic Organisms*. V. 21. P. 137–143.
- Wiklund T., Lonnstrom L., Niiranen H. 1993. *Aeromonas salmonicida* ssp. *salmonicida* lacking pigment production, isolated from farmed salmonids in Finland // *Diseases of Aquatic Organisms*. V. 15. P. 219–223.
- Wiklund T., Sazonov A.A., Liniova G.P., Pugayeva V.P., Zoobaha S.V., Bylund G. 1992. Characteristics of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isolated from wild pacific salmonids in Kamchatka, Russia // *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*. V. 12(3). P. 76–80.

Поступила в редакцию 21.08.2020 г.

Принята после рецензии 26.10.2020 г.

Aquaculture

The causative agent of furunculosis *Aeromonas salmonicida* in the Pacific salmon in Kamchatka

E. A. Ustimenko, N. V. Sergeenko

Kamchatka Branch of FSBSI «VNIRO» («KamchatNIRO»), Petropavlovsk-Kamchatsky, Russia

This paper summarizes several years of data from bacteriological research on the isolation and identification of *Aeromonas salmonicida* from Pacific salmon in Kamchatka. The pathogen was isolated from fish from every river and lake that was investigated in Kamchatka, the majority of which were spawning lakes. The distribution of the pathogen in fish populations was less 17%. Bacteria *A. salmonicida* were more often detected in mature salmon, including broodstocks at hatcheries. The pathogen was isolated from sockeye salmon, chum salmon, and coho salmon, recording a mostly asymptomatic carriage. The etiological agent of furunculosis was not recorded in chinook salmon. Most of the isolated bacteria showed weak or medium virulent properties, based on the presence of the DNase enzyme. The low temperature of Kamchatka salmon aquaculture probably is the main limiting factor for the outbreak of acute furunculosis in juveniles at hatcheries. A sluggish disease without clinical signs and with a relatively low mortality rate may develop if a highly virulent *A. salmonicida* enters to the hatchery.

Keywords: furunculosis, *Aeromonas salmonicida*, prevalence, virulence, Pacific salmon.

DOI: 10.36038/2307-3497-2020-182-139-150

REFERENCES

- Vyalova G. P., Shkurina Z. K. 2005. Mikroflora i bakterial'nye bolezni tihookeanskih lososej estestvennyh populyacij i v akvakul'ture na Sahaline [Microflora and bacterial diseases of Pacific salmon in wild populations and aquaculture in Sakhalin]. Yuzhno-Sahalinsk: SakhaNIRO 94204000214453. 120 s.
- Galanina E. V., Lomakina A. V. 2012. Issledovaniya zaboлеваemosti furunkulezom, vyzvannym inficirovaniem *Aeromonas salmonicida*, u lososevyh ryb yuzhnoj chasti ostrova Sahalin [Studies of the incidence of furunculosis caused by *Aeromonas salmonicida* in salmonids in the southern part of Sakhalin Island] // Izvestiya RAN. Ser. biol. № 5. S. 486–492.
- Zaplechnikova E. N., Maletina L. V. 1987. Epizootologiya aeromonozov tihookeanskih lososej [Epizootology of aeromonosis of Pacific salmon] // Parazity i bolezni morskikh gidrobiontov: sb. nauch. trudov. Murmansk: PINRO. S. 55–62.
- Zozulya E. A., Loduhin A. I., Lobuncov K. A. 1967. Furunkulez palii i foreli [Furunculosis of char and trout] // Veterinariya. № 5. S. 73–74.
- I Sun Dya Z. N. 1975. Furunkulez lososevyh [Furunculosis of salmon] // Byulleten' VIEV. M. Vyp. 20. S. 22–23.
- Karelina K. A., Ustimenko E. A. 2016. Patogennaya i uslovno-patogennaya mikroflora tihookeanskih lososej roda *Oncorhynchus* na LRZ Kamchatki v 2015 g. [Pathogens and opportunistic microflora of Pacific salmon of the genus *Oncorhynchus* at the Kamchatka's hatcheries in 2015] // Ezhegodn. mezhhreg. nauch.-prakt. konf. Petropavlovsk-Kamchatskij: FGBOU VO «KamGU im. Vitusa Beringa». Vyp. 6. Str. 210–215.
- Laboratornyj praktikum po boleznyam ryb [Laboratory manual of fish diseases]. 1983. Pod

- red. Musselius V.A. M.: Legkaya i pishchevaya promyshlennost'. 295 s.
- Sazonov A.A., Pugaeva V.P., Lineva G.P., Zubaha C.B. 1993. Sluchai furunkuleza u kety *Oncorhynchus keta* i kizhucha *Oncorhynchus kisutch* na Kamchatke [Cases of furunculosis in chum salmon *Oncorhynchus keta* and coho salmon *Oncorhynchus kisutch* in Kamchatka] // Issledovaniya biologii i dinamiki chislennosti promyslovyh ryb Kamchatskogo shel'fa. Vyp. 2. S. 230–240.
- Sbornik instrukcij po bor'be s boleznyami ryb [Digest of instructions for control of fish diseases]. 1998. Pod red. Yaremenko N.A. M.: Otdel marketinga AMB-agro. S. 114–174.
- Sergeenko N.V. 2012. Bakteriologicheskie pokazateli lososej v estestvennyh vodoemah Kamchatki [Bacteriological indicators of salmon in natural reservoirs of Kamchatka]. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Petropavlovsk-Kamchatskij: KamchatGTU. 23 s.
- Sergeenko N.V., Gavryuseva T.V., Ustimenko E.A., Bochkova E.V., Ovcharenko L.V., Rudakova S.L., Grickih E.A. 2013. Vidovoj sostav patogenov i ih rasprostranenie u nerki v nagul'no-nerestovyh ozerah Kamchatki [Species of pathogens and their distribution in sockeye salmon at the spawning lakes of Kamchatka] // Issledovaniya vodnyh biologicheskikh resursov Kamchatki i severozapadnoj chasti Tihogo okeana. Vyp. 29. S. 137–147.
- Ustimenko E.A., Sergeenko N.V. 2011. Vozbuditel' furunkuleza *Aeromonas salmonicida* u polovozreloj nerki (*Oncorhynchus nerka* Walbaum) iz oz. Azabach'e [The causative agent of furunculosis *Aeromonas salmonicida* in spawning sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka* Walbaum) in Azabachye Lake] // Voprosy rybolovstva. T. 12. № 3(47). S. 576–586.
- Ustimenko E.A. 2012. Bakterial'nye infekcii u tihookeanskih lososej pri iskusstvennom vosproizvodstve na Kamchatke [Bacterial infections of Pacific salmon in aquaculture in Kamchatka]. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Petropavlovsk-Kamchatskij: KamchatGTU. 23 s.
- Austin B., Austin D.A. 2016. Bacterial fish pathogens, disease of farmed and wild fish. 6th edn. Dordrecht: Springer. 732 c.
- Bernoth E.M. 1997. Diagnosis of furunculosis: the tools // Bernoth E.M., Ellis A.E., Midtlyng P.J., Olivier G., Smith P. (eds.). Furunculosis: multidisciplinary fish disease research. Academic Press, San Diego, CA. P. 98–158.
- Brenner D.J., Krieg N.R., Garrity G.M., Staley J.T., Firm K. 2005. Bergey's manual of systematic bacteriology. V. 2. The Proteobacteria. New York: Springer. 304 p.
- Cipriano R.C., Bertolini J. 1988. Selection for virulence in the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* using Coomassie brilliant blue agar // J. of Wildlife diseases. V. 24. P. 676–678.
- Cipriano R.C., Bullock G.L. 2001. Furunculosis and other diseases caused by *Aeromonas salmonicida*. U.S. Geological Survey Fish Disease Leaflet. Leetown, USA. № 66. 33 p.
- Fryer J.L., Hedrick R.P., Park J.W., Hah Y.C. 1988. Isolation of *Aeromonas salmonicida* from masu salmon in the Republic of Korea // J. of Wildlife diseases. V. 24. P. 364–365.
- Groberg W.J., McCoy R.H., Pilcher K.S., Fryer J.L. 1978. Relation of water temperature to infections of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), chinook salmon (*O. tsawytscha*) and steelhead trout (*Salmo gairdneri*) with *Aeromonas salmonicida* and *A. hydrophila* // Canadian J. of Fisheries and Aquatic Sciences. V. 35. № 1. P. 1–7.
- Gudmundsdottir B.K. 1998. Infections by atypical strains of the bacterium *Aeromonas salmonicida* // Buvisindi. V. 12. P. 61–72.
- Kim J.H., Hwang S.Y., Son J.S., Han J.E., Jun J.W., Shin S.P., Park S.C. 2011. Molecular characterization of tetracycline- and quinolone-resistant *Aeromonas salmonicida* isolated in Korea // J. of veterinary science. V. 12. P. 201141–48.
- Kipp R.M., Bogdanoff A.K., Fusaro A., Sturtevant R. 2020. *Aeromonas salmonicida* Emmerich and Weible, 1890. Accessible via: <https://nas.er.usgs.gov/queries/greatlakes/FactSheet.aspx?SpeciesID=2353>. 24/07/2020.
- Lian Z., Bai J., Hu X., Lü A., Sun J., Guo Y., Song Y. 2020. Detection and characterization of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* infection in crucian carp *Carassius auratus* // Veterinary research communications. V. 44. P. 61–72.
- Lim J., Hong S. 2020. Characterization of *Aeromonas salmonicida* and *A. sobria* isolated from cultured salmonid fish in Korea and development of a vaccine against furunculosis // Fish Diseases. V. 43. P. 609–620.
- Methods for the microbiological examination of fish and shellfish. 1989. Ed. by Austin B. and Austin D.A. Scotland: Edinburgh EH1 1HX. 260 p.
- Nomura T., Yoshimizu M., Kimura T. 1991 a. Prevalence of *Aeromonas salmonicida* in the chum salmon (*Oncorhynchus keta*), pink salmon (*O. gorbuscha*), and masu salmon (*O. masou*) returning to rivers in Hokkaido // Gyoby Kenkyu. V. 26 (3). P. 139–147.
- Nomura T., Yoshimizu M., Kimura T. 1991 b. Prevalence of *Aeromonas salmonicida* in the kidney of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) and masu salmon (*O. masou*) at various life stages // Gyoby Kenkyu. V. 26(3). P. 149–153.
- Nomura T., Yoshimizu M., Kimura T. 1993. An epidemiological study of furunculosis in salmon propagation in Japanese rivers // Fisheries research. V. 17. P. 137–146.
- Menanteau-Ledouble S., Kumar G., Saleh M., El-Matbouli M. 2016. *Aeromonas salmonicida*: updates on an old acquaintance // Diseases of Aquatic Organisms. V. 120(1). P. 49–68.
- Ogut H., Reno P.W. 2005. Evaluation of an experimental *Aeromonas salmonicida* epidemic in chinook

- salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum) // Fish Diseases. V. 28. P. 263–269.
- Post G. 1987. Textbook of fish health. T.F.H. publ., Inc. Ltd. 288 p.
- Sergeenko N.V., Ustimenko E.A. 2005. Characterization of strains of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isolated from spawning salmon in fish hatcheries on Kamchatka // Health and diseases of aquatic organisms: bilateral perspectives / Cipriano R.C., Shchelkunov I.S. (Eds.). Shepherdstown, USA. P. 256–259.
- Toranzo A.E. 2004. Report about fish bacterial diseases // Alvarez-Pellitero P., Barja J.L., Basurco B., Berthe F., Toranzo A.E. (eds.). Mediterranean aquaculture diagnostic laboratories. Zaragoza: CIHEAM. P. 49–89.
- Wiklund T. 1995. Survival of «atypical» *Aeromonas salmonicida* in water and sediment microcosms of different salinities and temperatures // Diseases of Aquatic Organisms. V. 21. P. 137–143.
- Wiklund T., Lonnstrom L., Niiranen H. 1993. *Aeromonas salmonicida* ssp. *salmonicida* lacking pigment production, isolated from farmed salmonids in Finland // Diseases of Aquatic Organisms. V. 15. P. 219–223.
- Wiklund T., Sazonov A.A., Liniova G.P., Pugaewa V.P., Zoobaha S.V., Bylund G. 1992. Characteristics of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isolated from wild pacific salmonids in Kamchatka, Russia // Bulletin of the European Association of Fish Pathologists. V. 12(3). P. 76–80.

TABLE CAPTIONS

- Table 1.** The number of adult Pacific salmon surveyed in 2000–2018
- Table 2.** The number of juveniles of Pacific salmon surveyed in 2000–2018
- Table 3.** Prevalence (%) of *A. salmonicida* in adult Pacific salmon from reservoirs of Kamchatka, including spawning fish at hatcheries, in 2000–2018

FIGURE CAPTIONS

- Fig. 1.** The bacterial growth of *A. salmonicida* with the brown pigment on TSA (left) and CBBA (right) media
- Fig. 2.** Comparative number of salmon fish infected by *A. salmonicida*: A — juvenile and adult, B — females and males.
- Fig. 3.** Prevalence (%) of *A. salmonicida* in spawning fish at hatcheries of Kamchatka in 2000–2018