

005013264

На правах рукописи

Сергеенко Наталья Валентиновна

**БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛОСОСЕЙ
В ЕСТЕСТВЕННЫХ ВОДОЕМАХ КАМЧАТКИ**

03.02.06 — ихтиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

15 MAR 2012

Петропавловск-Камчатский
2012

Работа выполнена в ФГУП «Камчатский институт рыбного хозяйства и океанографии (КамчатНИРО)» и ФГБОУ ВПО «Камчатский государственный технический университет»

Научный
руководитель: доктор биологических наук, профессор
Карпенко Владимир Илларионович

Официальные
оппоненты: доктор биологических наук Ю.П. Дьяков
доктор биологических наук,
старший научный сотрудник А.М. Токранов

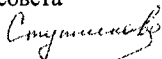
Ведущая организация: Магаданский научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства и океанографии (МагаданНИРО)

Защита состоится «28» марта 2012 г., в 11-00 часов, на заседании диссертационного совета Д 307.008.01 при Камчатском государственном техническом университете по адресу: 683003, г. Петропавловск-Камчатский, ул. Ключевская, д. 35.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Камчатского государственного технического университета (г. Петропавловск-Камчатский, ул. Ленинградская, 41а), с авторефератом – на официальных сайтах Министерства образования и науки РФ (vak2.ed.gov.ru) и www.kamchatgtu.ru

Автореферат разослан 26 » февраля 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
Д 307.008.01



Н.А. Ступникова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Лососи составляют наиболее экономически значимую часть биоресурсов Камчатки. Одним из лимитирующих факторов, влияющих на численность и продуктивность их популяций, являются инфекционные заболевания, в том числе бактериальные. В связи с этим изучение бактериоценозов рыб является одним из приоритетных направлений в ихтиопатологии.

Сведения об эпизоотической ситуации особенно актуальны для успеха искусственного разведения лососей. В настоящее время на полуострове функционируют пять лососёвых рыбоводных заводов (ЛРЗ), в перспективе планируется строительство новых. Согласно ветеринарно-санитарным требованиям для искусственного воспроизводства производителей отлавливают в водоемах, благополучных по инфекционным болезням рыб. Выявление характера циркулирующей среди диких рыб патогенной микрофлоры позволяет разработать соответствующие профилактические мероприятия для предотвращения вспышек энзоотий в аквакультуре и своевременного купирования возникших заболеваний, а определение эпизоотического статуса водоемов необходимо для выбора мест расположения новых рыбоводных объектов.

Потенциальная угроза интродукции патогенов в эндемичные для них зоны возникает при транспортировке живой рыбы и/или оплодотворенной икры (Rohovec et al., 1988). Региональными, национальными и межнациональными государственными организациями для предотвращения заболеваемости гидробионтов разработана политика регулирования передвижения рыб и оплодотворенной икры (Fryer et al., 1979; Rohovec, 1983). В России в ветеринарные сопроводительные документы на рыбу и рыбопродукцию в обязательном порядке включают информацию об эпизоотическом благополучии водоемов или районов промысла.

Широкое распространение микрофлоры в воде и рыбе, доказанная патогенность многих видов бактерий как для рыб, так и для человека свидетельствуют о высокой информативной значимости микробиологических исследований рыб и обуславливают возможность ее использования в качестве индикатора для оценки санитарно-эпизоотического состояния водной экосистемы (Ларцева, 2003). Согласно статистике недоброкачественная продукция из рыбы и беспозвоночных является причиной более 10% заболеваний пищевого происхождения (Liston, 1990; Ларцева, 2003). Эти заболевания обусловлены недостаточной обработкой продуктов из гидробионтов, что свидетельствует о необходимости исследования и нормирования широкого спектра бактерий, которые могут вызывать заболевания людей при наличии их в продуктах питания.

Бактериологические исследования лососей в водоемах Камчатки начали проводить с 1989 г. До этого времени обследовали только искусственно выращиваемых тихоокеанских лососей на рыбоводных заводах, поэтому информация о микрофлоре рыб из естественных водоемов в доступной литературе отсутствовала.

Цель работы – оценить состояние здоровья лососей в отношении бактериальных патогенов для определения эпизоотического статуса естественных водоемов Камчатки.

Для достижения цели поставлены следующие задачи:

- определить состав микрофлоры лососей в естественных водоемах западного и восточного побережий Камчатки;
- изучить патогенные свойства некоторых штаммов бактериальных патогенов, изолированных от камчатских лососей;
- выяснить распространенность бактериальных патогенов среди разных видов лососей;
- провести сравнительный анализ состава и распространения бактериальной флоры у лососей водоемов западного и восточного побережий Камчатки;
- оценить эпизоотический статус обследованных водоемов в отношении бактериальных патогенов лососей.

Научная новизна. В работе впервые представлены и проанализированы многолетние данные по бактериоценозам диких популяций лососей Камчатки. Оценена эпизоотическая ситуация и определены водоемы, неблагоприятные в отношении особо опасных бактериальных патогенов.

По результатам биохимического тестирования бактерий *Aeromonas salmonicida*, изолированных от лососей Камчатки, выявлены их отличия от типичных штаммов и описаны особенности, характерные для патогенов этого вида, выделенных от лососей азиатского побережья Тихого океана. Подтверждено наличие природного очага бактериальной септицемии у горбуши в Карагинском заливе Берингова моря, вызванной бактериями рода *Vibrio*. Путем экспериментального заражения молоди рыб доказана этиологическая роль и изучены патогенные свойства бактерий, изолированных от лососей. Дана сравнительная характеристика бактериоценозов лососей в водоемах западного и восточного побережий Камчатки.

Теоретическое и практическое значение. В результате настоящих исследований впервые определен состав микрофлоры камчатских лососей и оценен эпизоотический статус водоемов в отношении бактериальных патогенов. Сведения о бактериоценозах рыб в естественных водоемах позволят разработать мероприятия по недопущению попадания патогенов в аквакультуру и, следовательно, предотвратить возникновение бактериальных эпизоотий, при которых возможна массовая гибель молоди. Информация об эпизоотической обстановке в естественных водоемах понадобится при возможной интродукции лососей из одних водоемов в другие, а также будет учтена при обосновании строительства новых рыбоводных объектов.

В связи с выявлением у рыб из базовых для ЛРЗ водоемов особо опасных бактерий *A. salmonicida* рекомендовано обязательное бактериологическое тестирование лососей-производителей, используемых для искусственного воспроизводства.

Информация о бактериальной обсемененности исходного рыбного сырья в промыслово-значимых водоемах Камчатки может быть использована в системе контроля рыбопродукции для предотвращения порчи пищевых продуктов и гарантии их безопасности. Сведения о бактериальных патогенах в промыслово-значимых районах позволят рекомендовать рыбоперерабатывающим предприятиям методы утилизации пораженных рыб и, следовательно, уменьшить риск инфицирования следующих поколений гидробионтов. Дальнейший мониторинг бактериоценозов рыб, с учетом уже полученных данных, станет индикатором

изменений экологической ситуации и санитарно-эпизоотического состояния водоемов, что позволит своевременно принять меры по снижению микробного загрязнения рыб и других гидробионтов.

Результаты исследований используются в лекционных курсах и на практических занятиях по ихтиопатологии в Камчатском государственном техническом университете.

Личный вклад. Автором лично собран материал, использованный в работе. Непосредственно соискателем проведено планирование работ, подготовка и проведение экспериментов по искусственному заражению молоди лососей бактериальными агентами, бактериологические исследования и анализ полученных результатов.

Апробация работы. Материалы диссертации были доложены на Первой областной научно-практической конференции «Проблемы охраны и рационального использования биоресурсов Камчатки» (Петропавловск-Камчатский, 1999), Международной междисциплинарной конференции «Человек в прибрежной зоне: опыт веков» (Петропавловск-Камчатский, 2001), Четвёртой региональной конференции по актуальным проблемам экологии, морской биологии и биотехнологии студентов, аспирантов и молодых ученых Дальнего Востока России (Владивосток, 2001), Российско-американской конференции «Здоровье морских и водных животных (Шефердстоун, Западная Вирджиния, США, 2003), Международной научно-практической конференции «Стратегия развития аквакультуры в условиях XXI века» (Минск, 2004), Всероссийской научно-практической конференции-семинара «Эпизоотический мониторинг в аквакультуре: состояние и перспективы» (Москва, 2005), Международной научно-практической конференции «Озерные экосистемы биологические процессы, антропогенная трансформация, качество воды» (Минск, 2007), Международной конференции «Современное состояние водных биоресурсов» (Новосибирск, 2008), Третьей международной конференции «Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов» (Борок, 2011).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 15 работ, в том числе две в изданиях, рекомендуемых ВАК. Одна принята в печать в издание, рекомендуемое ВАК.

Структура диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, выводов, списка литературы и содержит 14 таблиц, 24 рисунка, 1 приложение. Список использованной литературы включает 254 источника, в том числе 160 иностранных. Общий объем работы – 146 страниц.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность за всестороннюю помощь при подготовке работы своему научному руководителю д.б.н., профессору В.И. Карпенко. Автор искренне благодарна бывшим и нынешним сотрудникам лаборатории болезней рыб и беспозвоночных КамчатНИРО за помощь и поддержку на всех этапах работы: к.м.н. [А.А. Сазонову], к.м.н. В.П. Пугаевой, к.б.н. И.В. Кармановой, к.б.н. С.Л. Рудаковой, к.б.н. Т.В. Рязановой, Е.В. Бочковой, И.В. Шлапаковой, Н.Н. Кольцовой, Г.П. Линёвой, К.В. Вожжову, а также сотрудникам КамчатНИРО Г.В. Базаркину и С.А. Петрову за помощь в сборе материала. Особая благодарность Е.А. Устименко за помощь в проведении исследований. Автор очень признательна к.б.н. Т.В. Гаврюсовой за проведение гистологических исследований и к.э.н. Ю.С. Морозовой за помощь в статистической обработке базы данных.

Глава 1. КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЪЕКТОВ, РАЙОНОВ ИССЛЕДОВАНИЯ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛОСОСЁВЫХ РЫБ

Во многочисленных водоемах Камчатского полуострова воспроизводятся шесть видов тихоокеанских лососей — горбуша *Oncorhynchus gorbuscha*, кета *O. keta*, нерка *O. nerka*, кижуч *O. kisutch*, чавыча *O. tshawytscha* и сима *O. masou*. Эти проходные рыбы нагуливаются, как правило, в океане, а на нерест возвращаются в пресноводные водоемы — реки и озера тихоокеанского побережья Азии и Америки. Миграция из пресных водоемов в море у различных видов происходит в разные сроки. Горбуша покидает реки вскоре после выхода из нерестовых бугров, кета — через 1–2 месяца, остальные лососи могут находиться в пресноводных водоемах 1–3 года. Нерестовая анадромная миграция, связанная с переходом из морской воды в пресную, осуществляется в разном возрасте. Горбуша приходит на нерест в возрасте двух лет, другие виды лососей — в возрасте 3–7 лет. В морской период жизни тихоокеанские лососи нагуливаются во всей северной части Тихого океана, включая Японское, Охотское и Берингово моря. Род гольцов (*Salvelinus*), так же как и лососи рода *Oncorhynchus*, относится к подсемейству лососёвых Salmoninae.

Океанический период является определяющим в формировании продукции, а пресноводный — численности поколений лососей (Карпенко, 1998). Речная сеть полуострова довольно развита и принадлежит бассейнам Охотского, Берингова морей и Тихого океана. Один из наиболее значимых нагульно-нерестовых водоемов для нерки — оз. Азабачье (бассейн р. Камчатка). Здесь проходит пресноводный период жизни как местной популяции, так и 50–70% молоди из притоков нижнего течения р. Камчатка, мигрирующей в озеро сеголетками (Бугаев, 1995).

Реки Авача и Паратунка, расположенные на юго-восточной Камчатке, являются нерестовыми водоемами для кеты, горбуши, кижуча и нерки, а также базовыми для ЛРЗ Кеткино (р. Авача) и ЭПЛРЗ (экспериментальный Паратунский лососевый рыбноводный завод) (р. Паратунка), где воспроизводят и подращивают кету и кижуча. Эти водоемы расположены в самом густонаселенном районе полуострова. Один из наиболее значимых промысловых водоемов восточной Камчатки — Карагинский залив Берингова моря. В реках Карагинского района нерестятся горбуша, кета, нерка, кижуч и чавыча.

На западном побережье Камчатки расположено оз. Курильское (бассейн р. Озерная), где воспроизводится крупнейшее стадо азиатской нерки (Крохин, Крогиус, 1956; Бугаев, 1995). В бассейне р. Большая находится оз. Начикинское — нагульно-нерестовый водоем для стада нерки, представленного двумя сезонными расами — ранней и поздней (Бугаев, 1995). Реки Плотнокова и Ключёвка (бассейн р. Большая) являются базовыми водоемами для ЛРЗ Малкинский и ЛРЗ Озерки, где воспроизводят кету, нерку и чавычу.

Одним из лимитирующих факторов, влияющих на численность поколений лососей, являются бактериальные болезни. Известно более 30 видов бактерий, патогенных для лососёвых рыб. Из них три вида — облигатные, или особо опасные, вызывающие заболевания, которые способны влиять на численность молоди и, следовательно, популяций в целом. Это возбудители фурункулеза — *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, бактериальной почечной болезни — *Renibacterium salmoninarum* и йерсиниоза — *Yersinia ruckeri* (Kinkelin, Hedrick, 1991).

Фурункулез лососевых — одно из наиболее распространенных бактериальных заболеваний лососёвых рыб, которые регистрируется как в рыбоводных хозяйствах, так и в естественных водоёмах. У взрослых особей, как правило, отмечают полостную или хроническую форму инфекции, характеризующуюся поражениями кожи, летаргией, экзофтальмией, покраснением плавников, многочисленными кровоизлияниями в мускулатуре и внутренних органах (McCarthy, 1993). У молоди лососей фурункулез протекает в острой форме с высоким уровнем смертности и проявляется общей септициемией, сопровождающейся потемнением окраски тела, кровоизлияниями у оснований плавников и экзофтальмией (Austin, Austin, 1993). В Дальневосточном регионе фурункулез зарегистрирован в естественных популяциях лососей на Камчатке (Wiklund et al., 1992; Сазонов и др., 1993; Sergeenko, Ustimenko, 2005), в Хабаровском крае (Заплетникова, Малетина, 1987) и на Сахалине (Вялова, Шкурина, 2005).

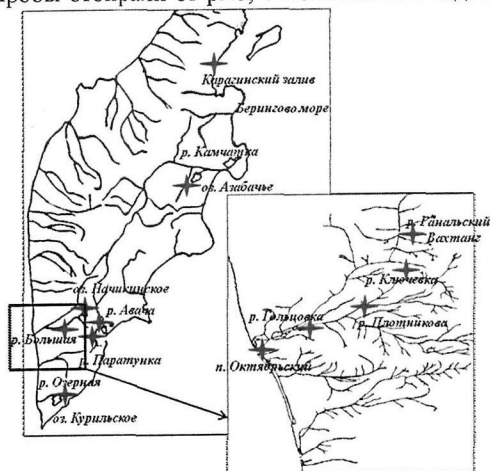
Бактериальная почечная болезнь (БПБ) подвержены в основном искусственно выращиваемые лососевые рыбы (Fryer, Sanders, 1981). Реже БПБ отмечают у рыб в естественных водоёмах (Banner et al., 1986).

Йерсиниоз (болезнь «красный рот») поражает в основном лососевых рыб в Северной и Южной Америке, в странах Европы и Австралии (Bullock, Anderson, 1984). В России до настоящего времени БПБ и йерсиниоз не зарегистрированы.

Вирулентные формы условно-патогенных бактерий родов *Aeromonas*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* также могут быть возбудителями бактериозов в естественных популяциях рыб (Austin, Austin, 1989). Они вызывают эпизоотию и массовую гибель при неблагоприятных или стрессовых для рыб условиях, способствующих повышению восприимчивости гидробионтов к инфекциям и усиливающих приспособляемость бактерий.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Бактериологические исследования лососей проводили в период 2001–2007 гг. Пробы отбирали от рыб, отловленных в водоёмах *западного* [оз. Начикинское,



устье р. Большая, рр. Ганальский Вахтанг, Гольцовка, Плотникова, Ключёвка (бассейн р. Большая), оз. Курильское (бассейн р. Озерная)] и *восточного* [рр. Авача, Паратунка; оз. Азабачье (бассейн р. Камчатка), Карагинский залив Берингова моря] побережий Камчатки (рис. 1). Всего было обследовано 3630 экземпляров рыб разных возрастных групп (таблица 1).

Для проведения экспериментов по искусственному заражению рыб бактериальными патогенами были привлечены дополнительные ма-

Рис. 1. Карта-схема мест отбора проб (на выделенном фрагменте – реки бассейна р. Большая)

териалы – штаммы бактерий, ранее выделенные от рыб с признаками патологии: *Aeromonas hydrophila* – от горбуши (Карагинский залив Берингова моря, 1990 г.; р. Авача, 1999 г.); *Vibrio anguillarum* – от горбуши (Карагинский залив Берингова моря, 1998 г.); *Actinomyces* sp. – от чавычи (р. Ключёвка, 2000 г.). Все штаммы бактерий хранились в банке культур лаборатории болезней рыб и беспозвоночных КамчатНИРО. В экспериментах использовали 125 мальков кеты, отобранных на ЭПЛРЗ, и 16 мальков чавычи с ЛРЗ Малкинский.

Таблица 1

Количество рыб, обследованных в 2001–2007 гг.

Вид рыбы	Количество обследованных рыб, экз.	
	молодь	половозрелые
западное побережье		
чавыча	30	180
нерка	270	870
кижуч	210	30
кета	90	150
горбуша	60	60
голец	60	–
восточное побережье		
нерка	150	270
кижуч	240	150
кета	210	420
горбуша	–	150
голец	30	–
	1350	2280

Молодь рыб из естественных водоемов отлавливали мальковым неводом, половозрелых – плавной жаберной сетью. От молоди пробы отбирали в лаборатории, от половозрелых рыб – на месте вылова. Единовременная выборка рыб составляла 30 экземпляров. После проведения биологического анализа от каждой рыбы отбирали в среднем по три пробы. Бактериологические посевы проводили из почек, а при патологических изменениях – из других внутренних органов и язвенных поражений кожи. Для культивирования бактерий использовали универсальные питательные среды: 1,5% Brain heart infusion agar (BHIA), Trypton-Soja-Agar (TSA) (Serva, Германия). Для изоляции аэромонад *A. salmonicida* применяли селективную среду Coomassie Brilliant Blue agar (TSA с добавлением 0,1% Coomassie Brilliant Blue (CBB) (Cipriano, 1997), для выявления рениобактерий *R. salmoninarum* – среду SKDM, для изоляции бактерий рода *Vibrio* – Thiosulfate-Citrat-Bile-Sucrose Agar (TCBSA) (Serva, Германия), для идентификации подвижных аэромонад – Triply-Sugar-Iron Agar (TSIA) (Serva, Германия).

Для определения таксономической принадлежности микроорганизмов изучали их культуральные, морфологические и биохимические свойства. Биохимическое тестирование бактерий проводили с использованием систем API 20NE, API 20E, RapID 20E и Staph (BioMerieux, Франция), таксономическую принадлежность устанавливали по Определителю бактерий Берджи (Holt et al., 1994). Для определения ДНКазной активности аэромонад применяли DNase agar (Oxoid, England) (Сборник инструкций..., 1998).

Экспериментальная проверка патогенности бактерий. При проверке патогенности *A. salmonicida* руководствовались методом американских исследователей, которые проводили искусственное заражение этим видом бактерий мальков атлантического лосося *Salmo salar* (Effendi et al., 1995). Молодь кеты разделили на три равнозначные группы. Первую инфицировали перорально, а вторую – путем орошения жабр бактериальной суспензией (150×10^6 кл/мл в 0,9% р-ре NaCl). Контрольной группе стерильный 0,9% раствор NaCl вводили перорально и орошали жабры. Эксперимент проводили в течение 7 суток при температуре 15°C. Погибших и выживших рыб исследовали на присутствие бактерий *A. salmonicida*.

Для определения патогенности подвижных азромонад *A. hydrophila* мальков кеты разделили на три группы – две опытные (для проверки двух разных штаммов) и одну контрольную. В стерильную воду вносили суточные культуры *A. hydrophila* до конечной концентрации бактерий 6×10^8 кл/мл, куда помещали на 15 мин рыб опытных групп. После этого их переносили в отдельные аквариумы с постоянной подачей воздуха компрессорами и температурой воды 15°C. Наблюдения проводили в течение 10 суток. По мере гибели мальков и по окончании эксперимента проводили посевы из почек и крови на среду TSA. Для последующего перепассажа использовали дифференциально-диагностическую среду TSAIA.

При проведении эксперимента по проверке патогенности *V. anguillarum* руководствовались описанием аналогичных опытов с мальками кеты в Японии (Tajima, 1981; Nomura, 1982). В стерильную воду вносили суточную культуру *V. anguillarum* до конечной концентрации бактерий 10^8 кл/мл, куда помещали на 7 мин рыб опытной группы. После этого их переносили в отдельные аквариумы с постоянной подачей воздуха компрессорами и температурой воды 14°C. Наблюдения проводили в течение 7 суток. По мере гибели мальков и по окончании эксперимента проводили посевы из почек на среды BHIA и TCBSA.

Для проверки патогенности актиномицетов малькам опытной группы внутримышечно вводили культуру *Actinomyces* sp. (150×10^6 кл/мл в 0,9% NaCl). Контрольной группе тем же способом инъецировали изотонический раствор NaCl. Затем опытную и контрольную группы переносили в отдельные аквариумы с постоянной подачей воздуха компрессорами и температурой воды 15°C. По мере гибели рыб и по окончании эксперимента делали посевы из почек и крови на среду TSA. Параллельно отбирали пробы для гистологических исследований погибших рыб фиксировали в жидкости Дэвидсона, затем переносили в 70° этиловый спирт. Дальнейшую обработку материала продолжали по общепринятым методикам (Vancroft et al., 1990). Препараты окрашивали гематоксилин-эозином по Мейеру, по Романовскому – Гимза и по Граму.

Статистическую обработку данных осуществляли в компьютерных программах Excel и IBM SPSS (19 версия). Анализ проводился на основе построения таблиц сопряженности. Проверка гипотезы о связи проводилась на основе использования критерия χ^2 Пирсона (в таблицах сопряженности 2×2 использовалась поправка на непрерывность). Уровень значимости принимался $p \leq 0,05$. Оценка связи определялась по симметричным мерам – коэффициенту контингенции (Фи (ϕ)) – аналог корреляции Пирсона) и коэффициенту взаимной сопряженности Крамера (V Крамера), который использовался для таблиц с $df > 2$.

Глава 3. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛОСОСЁВЫХ РЫБ, СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ И ПАТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ

В главе представлены результаты биологического анализа исследованных лососей – средние показатели длины, массы тела и коэффициента упитанности по Фультону ($У_{\phi}$) (таблица 2).

Таблица 2

Средние биологические показатели (min-max) обследованных лососей			
Вид рыбы	Средняя длина АД, см (min-max)	Средняя масса, г (min-max)	$У_{\phi}$
молодь			
кета 0+	3,35–5,11	0,45–1,56	1,08–1,26
кижуч 0+	3,54–4,46	0,92–1,32	1,13–1,41
нерка 0+	2,55–3,64	0,14–0,68	0,71–1,49
горбуша 0+	3,05–3,09	0,21–0,23	0,74–0,78
кижуч 1+	6,12–8,32	3,89–7,97	1,31–1,71
нерка 1+	5,42–7,28	2,06–3,64	0,95–1,93
голец 1+	6,47–7,96	4,06–7,08	1,35–1,51
половозрелые			
кета	58,20–66,03	3122–4800	1,00–1,78
кижуч	48,17–63,15	1476–3540	1,46–1,70
нерка	44,80–64,75	1158–3400	1,13–2,40
горбуша	41,27–48,60	961–1367	1,18–1,60
чавыча	84,30–88,70	8653–9130	1,31–1,48

Спектр микрофлоры, изолированной от лососёвых рыб за период исследований, составляли бактерии семейств Vibrionaceae, Pseudomonadaceae, Staphylococcaceae, Enterobacteriaceae, Actinomycetacea (таблица 3).

Таблица 3

Микрофлора, выявленная у лососёвых рыб

Семейство	Род	Вид
Vibrionaceae	<i>Aeromonas</i>	<i>A. salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i>
		<i>A. hydrophila</i>
		<i>A. sobria</i>
	<i>Vibrio</i>	<i>A. caviae</i>
		<i>V. anguillarum</i>
		<i>V. fluvialis</i>
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>P. fluorescens</i>
		<i>P. putida</i>
		<i>P. alcaligenes</i>
Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus</i>	<i>S. epidermidis</i>
		<i>S. saprophyticus</i>
		<i>S. warneri</i>
Enterobacteriaceae	<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter</i> sp.
	<i>Serratia</i>	<i>S. liquefaciens</i> <i>Serratia</i> sp.
Actinomycetacea	<i>Actinomyces</i>	<i>Actinomyces</i> sp.
Роды с неясным систематическим положением	<i>Flavobacterium</i>	<i>F. psychrophilum</i> <i>F. indologenes</i> <i>F. multivorum</i>

Из всех выявленных бактериальных патогенов наиболее опасен для лососей возбудитель фурункулеза *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*. Согласно Ветеринарному законодательству в России этот вид бактерий является для рыб сертифицируемым (Ветеринарное законодательство, 2000). На Камчатке патоген впервые изолировали от половозрелой кеты с язвенными поражениями кожи из Берингова моря в 1989 г. (Wiklund et al., 1992; Сазонов и др., 1993). Остальные выявленные микроорганизмы относятся к условно-патогенной микрофлоре, так как способны вызывать специфические и ассоциативные бактериозы у рыб в условиях стресса. Представители рода *Aeromonas* подвижные аэромонады *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae* официально признаны эпизоотически значимыми для рыб бактериями. Аэромонады лососевых внесены в «Перечень заразных и иных болезней животных» (Приказ Минсельхоза РФ от 09.03.2011 г. № 62), обязательных для контроля на территории России.

Бактерии рода *Vibrio* (*V. anguillarum*, *V. fluvialis*), вызывающие вибриоз, являются сертифицируемыми в странах ЕС и Канаде. Для предупреждения внесения патогена на рыбоводные предприятия или распространения его в дикой природе законодательством этих стран (Mahnken, 1975; Daelman, 1993; Department of Fisheries and Oceans, 1984; Nordic Manual, 1992) предусмотрено обязательное включение информации о присутствии вибрионов при транспортировке рыбы в соответствующие сертификаты. Вибрионы, обычно рассматриваемые как морские или эстуарные организмы, могут быть патогенными для культивируемых в пресных водах рыб и стать одним из лимитирующих факторов для искусственного разведения (Horne, 1928).

Бактерии рода *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. putida*, *P. alcaligenes*) являются обычными представителями водной микрофлоры. Наряду с аэромонадами это самый распространенный род бактерий, составляющих бактериоценозы лососей Камчатки. Их выявляли ежегодно у лососей, как внешне здоровых, так и с признаками патологии, из всех обследованных водоемов.

Бактерии родов *Staphylococcus*, *Enterobacter* и *Serratia*, как правило, являются индикаторами биологического загрязнения водоема, так как поступают в него только от теплокровных животных и человека, но они способны участвовать в неспецифических септических процессах рыб, а также вызывать различные бактериозы (Austin, Austin, 1993). Заболевания рыб, вызванные *S. epidermidis*, характеризуются экзофтальмией, язвенными поражениями на хвосте (Kusuda, Sugiyama, 1981). Аналогичные патологические признаки и скопление асцитической жидкости в брюшной полости, вызванные стафилококками *S. warneri*, регистрировали у радужной форели (Gil et al., 2000). Описаны заболевания рыб, вызванные бактериями *S. liquefaciens*. Патоген выявили у погибших рыб без внешних признаков патологии, но при вскрытии обнаружили разбухание почки и селезенки, мраморную окраску печени и скопление асцитической жидкости в брюшной полости (Mcintosh, Austin, 1990). В 1999 г. в США от гольца с признаками септицемии, характеризующейся покраснением ануса, множественными кровоизлияниями во внутренних органах и скоплением асцитической жидкости, были выделены бактерии *S. liquefaciens* (Starliper, 2001). За период наших исследований у лососей, инфицированных этими микроорганизмами, признаков заболеваний не выявили. Вероятно, низкие темпера-

туры воды в исследуемых водоемах сдерживают развитие патологических процессов, так как оптимальная температура для размножения вышеуказанных бактерий – 15–20°C (Austin, Austin, 1993).

Роль бактерий семейства Actinomycetacea в патологии рыб малоизвестна. Actиномицеты — это особая группа микроорганизмов с морфологическими особенностями бактерий и низших грибов, которые широко распространены в природе. Большинство из них – сапрофиты, но некоторые виды паразитируют в организме теплокровных животных, вызывая у них такие заболевания, как актиномикоз и актинобациллез (Ветеринарная энциклопедия, 1968). Описаны случаи обнаружения актиномицетов в желудочно-кишечном тракте некоторых видов рыб (Austin, Austin, 1993). Впервые актиномицеты *Actinomyces* sp. на Камчатке изолировали от половозрелой чавычи из р. Плотникова (бас. р. Большая) с опухолью на пилорических придатках в 2000 г. (Сергеенко и др., 2004). С тех пор у лососей регистрировали только асимптоматическое носительство этих микроорганизмов.

Флавобактерии (род *Flavobacterium*) по результатам наших исследований патологического влияния на лососей не оказывали. Однако они могут создать серьезные экономические проблемы на рыбоводных заводах (Farkas, Olah, 1986; Turnbull, 1994). Так, на Камчатке у молоди кижуча (Вилюйский ЛРЗ) в 2004 г. регистрировали заболевание, вызванное ассоциацией микроорганизмов: жабры 46,6% рыб были контаминированы смешанной микрофлорой, в том числе и бактериями *Flavobacterium psychrophilum* (Устименко, 2006). Миксобактериозы лососевых, вызываемые бактериями рода *Flavobacterium*, внесены в «Перечень заразных и иных болезней животных».

Для подтверждения этиологической роли выявленных от лососей бактерий и определения степени их патогенности (вирулентности) были проведены эксперименты по заражению молоди рыб особо опасным патогеном и условно-патогенными микроорганизмами: *A. salmonicida*, *A. hydrophila*, *V. anguillarum* и *Actinomyces* sp.

Aeromonas salmonicida. Гибель мальков регистрировали на 4 сутки после заражения. За шесть дней эксперимента погибли 7 из 10 рыб, инфицированных через жабры, и одна особь, которой патоген вводили перорально. У погибших рыб не наблюдали видимых признаков патологии. В контрольной группе летальных случаев не отмечали. Результат эксперимента подтвердил этиологическую роль *A. salmonicida*. Из внутренних органов всех погибших рыб выделили бактерии, идентичные по морфологическим и биохимическим признакам исходному штамму. Степень патогенности бактерий при пероральном способе инфицирования составила 10% зараженности и 10% смертности, а при орошении бактериальной суспензией жабр – 70% зараженности и 70% смертности рыб опытной группы при концентрации бактерий 150×10^6 кл/мл и температуре воды 16°C. Установили, что патоген может проникать в организм различными путями, но наиболее высока вероятность заражения через жабры. Уровень смертности при этом способе инфицирования оказался выше, что согласуется с данными других исследователей, полученными в результате аналогичных экспериментов по заражению атлантического лосося (Effendi, Austin, 1995).

Aeromonas hydrophila. Проявление признаков заболевания и гибель мальков регистрировали на вторые сутки после заражения. В течение первых трех суток эксперимента погибли две особи из группы рыб, инфицированных штаммом 1990 г., и 6 рыб из группы, зараженной штаммом 1999 г. В контрольной группе признаков заболевания и случаев гибели рыб не отмечали. В результате эксперимента подтвердили этиологическую роль аэромонад в развитии патологического процесса. Степень вирулентности штамма *A. hydrophila*, изолированного от горбуши с признаками геморрагической септицемии в 1990 г., составила 13,3% зараженности и 6,7% смертности, а для штамма 1999 г. – 40% зараженности и 40% смертности при концентрации бактерий 6×10^8 кл/мл, экспозиции 15 мин. и температуре воды 15°C.

Следует отметить, что после расконсервации штаммов *A. hydrophila* установили, что аэромонады, изолированные от горбуши в 1990 г., утратили протеолитические свойства, а бактерии, выделенные в 1999 г., – способность к образованию индола и некоторые ферментативные свойства, характерные для данного вида микроорганизмов. Результаты биохимического тестирования бактерий, выделенных от зараженных мальков, показали восстановление их протеолитической активности и ферментативных свойств. Вирулентность бактерий *A. hydrophila* связывают со способностью продуцировать ферменты: желатиназу, эластазу, липазу, лецитиназу (Roberts, 1994). Таким образом, было установлено, что после взаимодействия с организмом рыбы бактерии восстановили утраченные после длительного хранения свойства и, следовательно, патогенность.

Vibrio anguillarum. Признаки заболевания и гибель рыб регистрировали на вторые сутки после заражения. В контрольной группе признаков заболевания и случаев гибели не было. У мальков опытной группы отмечали нарушения координации, экзофтальмию, гиперемию в области ануса и брюшных плавников, кровоизлияния в жабры. При вскрытии рыб отмечали кровонизлияния на слизистых оболочках внутренних органов, увеличение селезенки, дряблость печени и почки. У большинства погибших мальков наблюдали скопление экссудата в брюшной полости. Эти симптомы характерны для геморрагической септицемии (Noga, 1996).

Из внутренних органов всех погибших рыб выделили бактерии, идентичные по культуральным и морфологическим свойствам исходному штамму. Биохимические характеристики исходного и реизолированного от погибших мальков штаммов отличались по реакции Фогес-Проскауэра и нитрификационным свойствам, что допускается внутривидовой вариабельностью (Shewan, Veron, 1974). Патогенность бактерий при концентрации 10^8 кл/мл для мальков кеты составила 80% зараженности и 76% смертности при температуре воды 14,5°C (Сергеенко и др., 2000).

Actinomyces sp. Признаки заболевания и гибель рыб регистрировали на вторые сутки после заражения. В течение первых трех суток погибли 7 особей из опытной группы. В контрольной группе патологических изменений и летальных случаев у рыб не отмечали. От погибших мальков были изолированы бактерии, идентичные по культуральным, морфологическим и биохимическим свойствам исходному штамму *Actinomyces* sp.

При гистологических исследованиях погибших мальков чавычи выявили грамположительные палочки в скелетной мускулатуре, соединительной ткани под спинным плавником и вокруг хрящевой ткани (рис. 2).

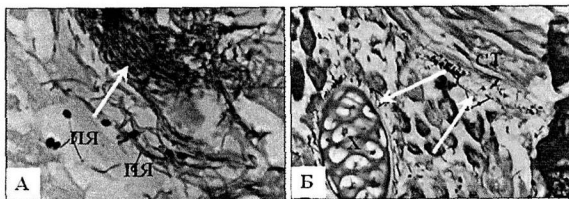


Рис. 2. Гистопатологические изменения у мальков чавычи, экспериментально зараженных *Actinotusces* sp.: А – палисадно расположенные палочки-нити актиномицетов (A) и некротические ядра (ПЯ) в очаге некроза скелетной мускулатуры, (x1000, гематоксилин-эозин); Б – актиномицеты (A) в соединительной (СТ) и вокруг хрящевой ткани (Х) (x400, Романовский – Гимза)

Аналогичные микроорганизмы регистрировали и у половозрелой чавычи, от которой были выделены актиномицеты в 2000 г., в мышечной ткани пилорических придатков (Сергеенко др., 2004). В результате эксперимента установили патологическое воздействие актиномицетов на рыб и определили степень их патогенности. Она составила 87,5% зараженности и 87,5% смертности при концентрации бактерий 150×10^6 кл/мл и температуре воды 15°C .

Глава 4. РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ СРЕДИ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ КАМЧАТКИ

Западное побережье. Анализ распространения бактерий у разных видов лососей показал, что чаще всего от них изолировали бактерии рода *Pseudomonas*. За весь период исследований их выделили от 3,3–19,4% рыб (рис. 3А, В). Исключением были половозрелая кета, у которой аэромонады встречались в два раза чаще, чем псевдомонады (20,7% и 9,3% соответственно), и половозрелая горбуша, у которой превалировали бактерии семейства *Enterobacteriaceae*. Наиболее широкий спектр микрофлоры выявили у нерки, как у молоди, так и у половозрелых особей. Особо опасные бактерии *A. salmonicida* выделили от половозрелых нерки и кеты, а также от молоди кеты из бас. р. Большая. Следует отметить, что у молоди выявили только атипичные штаммы патогена. Условно-патогенные бактерии среди молоди рыб наиболее часто выявляли у гольца и кижуча. Они контаминировали до 15,2% обследованных рыб. Менее всего бактерионосителей было среди молоди чавычи (3,3%). У половозрелых рыб бактериальные патогены чаще выявляли у кеты (1,3–20,7%) и чавычи (2,2–19,4%), реже – у кижуча (6,7%).

Оценка распространенности бактерий по водоемам западного побережья показала, что наиболее широкий спектр микрофлоры выявили у молоди и половозрелых лососевых рыб из бассейна р. Большая, наименее разнообразным был бактериальный состав у молоди рыб из оз. Курильское (рис. 4Б, Г). В этом водоеме встречаемость бактерий как у молоди, так и у половозрелых лососей была самой низкой (0,6–6,7%).

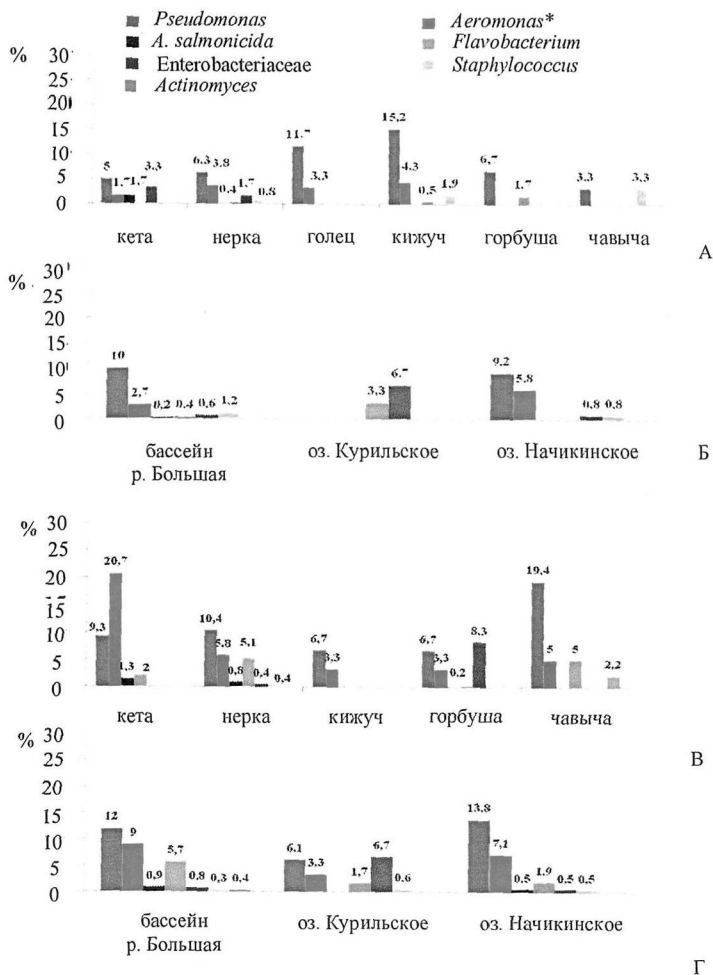


Рис. 3. Распространенность бактерий по видам лососевых рыб и водоемам (западное побережье Камчатки): А, Б — молодь; В, Г — половозрелые (* — только подвижные аэромонады)

Восточное побережье. Условно-патогенную микрофлору изолировали от всех исследованных видов рыб. Бактерии р. *Pseudomonas* наиболее часто выявляли у молоди лососевых рыб (9,3–26,7%), а микроорганизмы р. *Aeromonas* — у половозрелых лососей (4,7–16,3%) (рис. 4А, В). Наиболее широкий спектр микрофлоры изолировали от кеты.

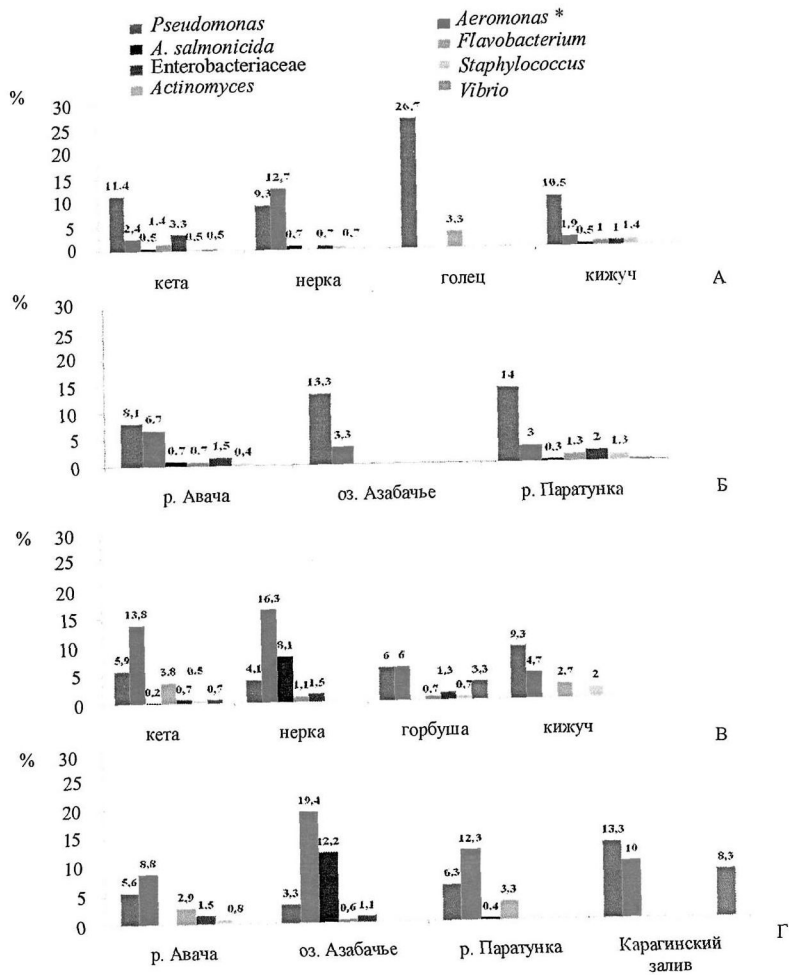


Рис. 4. Распространенность бактерий по видам лососевых рыб и водоемам (восточное побережье Камчатки): А, Б – молодь; В, Г – половозрелые (* – только подвижные аэромонады)

Особо опасные бактерии *A. salmonicida* выявили у половозрелой нерки из оз. Азабачье (12,2%) и кеты из р. Паратунка (0,4%). Атипичные штаммы этого патогена изолировали от молоди кеты и нерки в рр. Паратунка (0,3%), Авача (0,7%). Условно-патогенные бактерии у молоди рыб наиболее часто выделяли от гольца (3,3–26,7%) и нерки (0,7–12,7%). Менее всего бактерионосителей было среди кижуча (0,5–10,7%). Среди половозрелых рыб бактериальные патогены чаще выявляли у нерки (1,1–16,3%) и кеты (0,2–13,8%), менее всего бактерионосителей регистрировали у горбуши (0,7–6%).

Анализ распространенности бактерий у рыб по водоемам восточного побережья показывает, что наиболее широкий спектр микроорганизмов выявили

у лососевых рыб из рр. Авача и Паратунка (рис. 4Б, Г). Во всех водоемах у молоди преобладали псевдомонады, а у половозрелых, кроме горбуши из Карагинского залива, – аэромонады. Особенностью микрофлоры рыб из Карагинского залива было присутствие галофильных бактерий р. *Vibrio*, их изолировали от 8,3% исследованных лососей. Распространенность других видов бактерий у рыб из всех водоемов была невысока и не превышала 3,3%.

Глава 5. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БАКТЕРИОЦЕНОЗОВ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ ВОСТОЧНОГО И ЗАПАДНОГО ПОБЕРЕЖИЙ КАМЧАТКИ

Особо опасные патогены. Возбудитель фурункулеза лососей – *A. salmonicida* обнаружен у трех видов лососей – кеты, нерки и кижуча. Среди всех обследованных особей 1,4% половозрелых и 0,3% молоди рыб были инфицированы этим патогеном. От молоди изолировали только атипичные штаммы *A. salmonicida*. Анализ распространенности патогена по водоемам показал, что чаще всего бактерии *A. salmonicida* выявляли у лососей из оз. Азабачье (12%).

В остальных водоемах встречаемость патогена за весь период исследований не превысила 1% (р. Паратунка – 0,4%, оз. Начикинское – 0,5%, р. Плотникова (бассейн р. Большая) – 0,9%). Таким образом, в водоемах восточного побережья бактерии *A. salmonicida* от половозрелых рыб изолировали в три раза чаще (2,3%), чем в водоемах западного (0,7%). Встречаемость бактерий *A. salmonicida* у молоди лососей из водоемов была невысока и не превышала 0,7%.

Характерные признаки острой формы фурункулеза в виде язвенных поражений кожи выявили только однажды – у половозрелой нерки из р. Плотникова. Зарубцевавшиеся поражения кожи, свидетельствующие о перенесенном заболевании или его хронической форме (Austin, Austin, 2007), ежегодно отмечали у нерки из оз. Азабачье, причем такие признаки выявляли только у поздней расы (в августе–сентябре). В отдельные годы встречаемость таких рыб достигала 12% от выборки (рис. 5А). Применение дифференциально-селективной среды СВВ agar позволило выявить бактерии *A. salmonicida* и у рыб без признаков патологии.

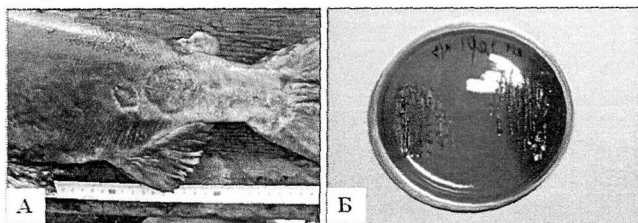


Рис. 5. Зарубцевавшиеся поражения кожи у нерки из оз. Азабачье (А); характерный рост бактерий *A. salmonicida* на среде СВВ agar (Б)

Все культуры *A. salmonicida*, выделенные от половозрелых лососей, на среде TSA образовывали коричневый диффундирующий пигмент. Характерный рост на среде СВВ agar (рис. 5Б) свидетельствовал о наличии у них особого протеинового А-слоя, который обеспечивает защиту бактериальной клетки против фагоцитоза и разрушения ее макрофагами. Такие штаммы более устойчивы к действию защитных сил организма и, следовательно, обладают вирулентностью (Wilson, Horne,

1986; Cipriano, Bertolini, 1988; Austin, Austin, 1993; Cipriano, 1997). Потенциальную патогенность выделенных штаммов *A. salmonicida* подтвердило и наличие у них ДНКазной активности.

Особенностью всех штаммов *A. salmonicida*, выделенных в разные годы от лососей Камчатки, была способность ферментировать сахарозу, что свойственно бактериям этого вида, изолированным от рыб из водоемов азиатского побережья Тихого океана: Японии (Nomura et al., 1991), Кореи (Fryer et al., 1988), Сахалина (Вялова, Шкурина, 2005).

Условно-патогенные бактерии за весь период исследований выявлены у 22% половозрелых и 16% молоди лососевых рыб. Среди молоди наиболее часто бактериальную флору выявляли у гольца (30%) и нерки (21,7%) из р. Паратунка. Реже всего бактерии изолировали от молоди чавычи (2%) из бассейна р. Большая и молоди нерки из оз. Курильское (3,3%) (рис. 6).

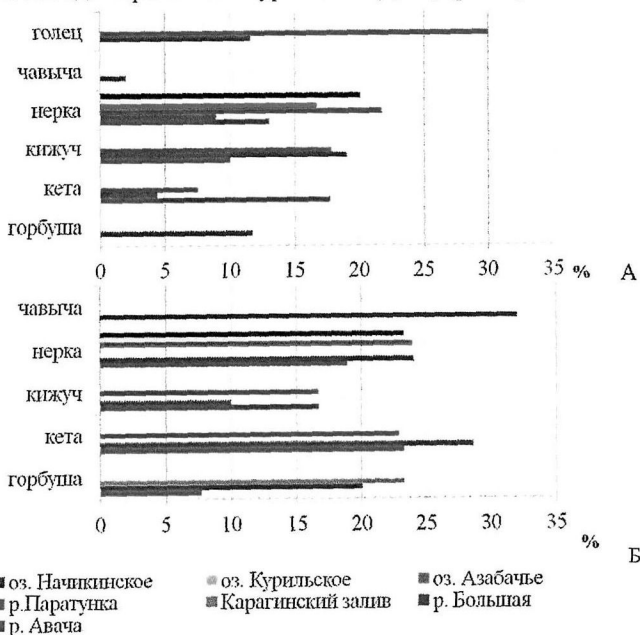


Рис. 6. Распространенность условно-патогенных бактерий по видам лососевых рыб и водоемам: А – молодь; Б – половозрелые

При исследовании половозрелых лососей больше всего носителей условно-патогенной микрофлоры выявили среди чавычи (36%), кеты (28,6%) и нерки (24%) из бассейна р. Большая. Реже бактерии изолировали от горбуши (7,7%) из р. Авача и кижуча (10%) из бассейна р. Большая.

Большинство обследованных лососевых рыб не имели визуальных патологических изменений. Признаки заболеваний регистрировали при обследовании нерки из оз. Начикинское в 2004 г.: экзофтальмию, гидроцефалию, кровоизлияния на поверхности тела выявили у 33% молоди, а у 11% – изменение цвета (бледность) печени и почки, у 44% половозрелой нерки отмечали язвы на голове,

боковой поверхности, хвостовом стебле и опоясывающие (рис. 7А). Язвенные поражения кожи, кровоизлияния в печени и молоках отмечали в единичных случаях у половозрелых кеты и нерки из р. Плотникова; нерки, кеты, кижуча и горбуши из рр. Авача и Паратунка. Встречаемость таких рыб за период исследований была невысока – 3,3–6,7%. Эти патологические изменения характерны для бактериальной геморрагической септицемии, вызванной подвижными аэромонадами (Hazen et al., 1978; Miyazaki, Kaige, 1985; Каховский, 1991; Юхименко, 1997). От рыб с признаками патологии изолировали аэромонады *A. hydrophila*, *A. sobria* в комплексе с другими условно-патогенными бактериями.

При обследовании горбуши в Карагинском заливе Берингова моря у 1–7% рыб отмечали поверхностные язвы на коже, иногда проникающие в мышечную ткань (рис. 7Б), и кровоизлияния, преимущественно в брюшной части тела и около плавников, отек и воспаление различных тканей, кровоизлияния в желудочно-кишечном тракте, паренхиматозных органах, сердце и скелетной мускулатуре. От пораженных лососей изолировали бактерии родов *Pseudomonas*, *Aeromonas* и *Vibrio*. Геморрагическую септицемию, вызванную бактериями *V. anguillarum*, диагностировали у горбуши из этого залива ранее, в 1997–1999 гг. (Гаврюсева и др., 1999; Пугаева и др., 2000).

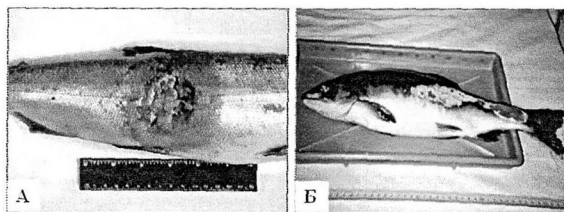


Рис. 7. Признаки бактериальных заболеваний у лососей: А – язвы у нерки из оз. Начикинское; Б – поражения кожи у горбуши из Карагинского залива Берингова моря

Вероятно, морфологические особенности и географическое расположение водоемов являются дополнительными факторами риска распространения инфекции у рыб при неблагоприятных (стрессовых) условиях. Так, большая площадь (62 км²) и относительно небольшая глубина (до 37 м) оз. Азабачье способствуют быстрому теплообмену (Бугаев, 1995), поэтому в августе–сентябре здесь отмечают максимальные значения температуры воды – на литорали до 20°C (Базаркина, 2007). Видимому, повышение температуры к августу и прогрев воды озера в течение двух летних месяцев ведут к быстрому накоплению органических веществ и интенсивному развитию микрофлоры, в частности аэромонад. Как известно, богатая питательными веществами эвтрофическая окружающая среда способствует выживанию бактерий в природе и, следовательно, их распространению (Wiklund, 1995).

Несомненно, одним из факторов риска для распространения бактериальных заболеваний является большое скопление рыб на нерестилищах. Оптимально допустимым считается заполнение, при котором на одну самку приходится 0,45 м² (Таранец, 1939). В оз. Начикинское в четные годы наблюдаются локальные пики численности популяций нерки, в результате чего на нерестилища заходит несколько большее количество производителей (Бугаев, 1995). При этом создаются благоприятные условия для пассивирования бактерий. Для этого водоема характерно слабое течение воды, рыхлый грунт с примесью песка и ила, скопления органических остатков отнерестившихся рыб. Бактерии рода *Aeromonas* являются постоянными составляющими микрофлоры воды и различных гидробионтов. Их количество взаи-

мосвязано с общим уровнем сапрофитов, прямо пропорционально содержанию органических веществ и обратно пропорционально количеству кислорода в воде (Ларцева, 2003). Вероятно, скопление рыб на нерестилище оз. Начикинское в 2004 г., когда их количество на 1 м² достигало 10 экз. (данные КамчатНИРО), спровоцировало вспышку бактериальной геморрагической септицемии.

Широкий спектр микроорганизмов, присутствие стафилококков и актиномицетов у лососей из бассейна р. Большая и рр. Авача и Паратунка могут свидетельствовать об антропогенном воздействии на водоемы. В бассейне р. Большая находятся населенные пункты: пос. Октябрьский, Усть-Большереецк, Апача, Сокоч, Начики, Малки, Ганалы, а рр. Авача и Паратунка расположены в самом густонаселенном районе полуострова.

Многочисленное выделение бактерий родов *Pseudomonas*, *Aeromonas* и *Vibrio* от горбуши с признаками геморрагической септицемии из Карагинского залива Берингова моря указывает на природно-очаговый характер бактериальной инфекции рыб. Район имеет большое рыбохозяйственное значение. Скопление рыб, идущих на нерест, активный промысел с использованием ставных неводов способствуют распространению бактериальных инфекций и накоплению патогенов в заливе.

Самый низкий уровень контаминации рыб бактериями отмечали в оз. Курильское. Вероятно, это обусловлено значительным удалением водоема от населенных пунктов и особым температурным режимом озера. Водоем расположен на территории Южно-Камчатского заказника и является наиболее холодноводным среди всех обследованных. Невысокая температура воды в летний период – 5–10°С (данные Озерновского наблюдательного пункта КамчатНИРО), обусловленная глубоководностью – 195,2 м, сдерживает развитие патогенной микрофлоры у рыб.

Анализ долевого участия бактерий разных таксономических групп в общем спектре выявленной микрофлоры показал, что в структуре бактериоценозов молод и половозрелых рыб западного побережья преобладали псевдомонады (61 и 44% соответственно) (рис. 8). Особенности микрофлоры рыб восточного побережья была более высокая доля аэромонад. У половозрелых лососей они занимали почти половину от всей выявленной микрофлоры (48%). Встречаемость бактерий *A. salmonicida* была выше у рыб восточного побережья.

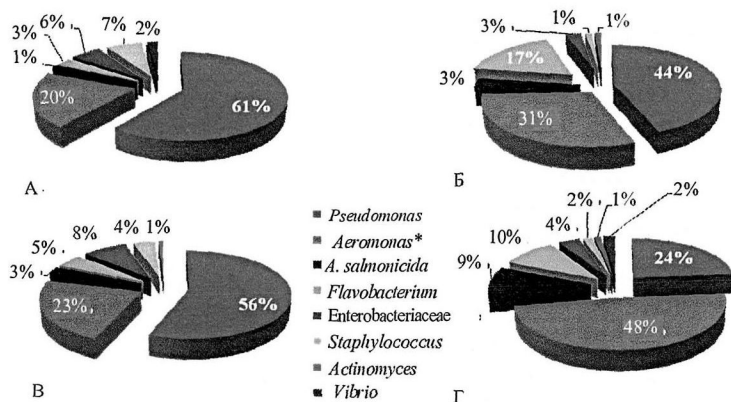


Рис. 8. Спектр микрофлоры лососей Камчатки: А и Б – молод и половозрелые лососи западного побережья Камчатки; В и Г – молод и половозрелые лососи восточного побережья (* – только подвижные аэромонады)

Флавобактерии, как на западном побережье, так и на восточном, чаще присутствовали у половозрелых рыб, а энтеробактерии и стафилококки – у молоди. Суммарные показатели носительства условно-патогенной микрофлоры у всех исследованных рыб (молоди и половозрелых) на восточном и западном побережьях были одинаковыми (19,3%). Особо опасный патоген возбудитель фурункулеза *A. salmonicida* в генеральной совокупности в три раза чаще встречался у лососей из водоемов восточного побережья.

Статистический анализ данных, проведенный на основе построения таблиц сопряженности по категории «побережье – бактерии» выявил малое значение p – уровня значимости ($< 0,05$) и относительно большое значение критерия χ^2 (9,410 с поправкой на непрерывность — 8,356). Таким образом, с высоким уровнем статистической значимости (95%) можно утверждать о наличии связи между побережьем, где расположен водоем и присутствием у рыб возбудителя фурункулеза *A. salmonicida*.

В целом по комплексу условно-патогенных бактерий связь «побережье – бактерии» статистически не подтверждается, но по отдельным родам микроорганизмов она прослеживается. С высоким уровнем статистической значимости можно судить о наличии связи между побережьем и присутствием бактерий родов *Pseudomonas* ($p < 0,05$; χ^2 20,804) и *Aeromonas* ($p < 0,05$; χ^2 9,888). Однако значения корреляций ($\Phi \sim 0,1$) не позволяют считать эту связь устойчивой в целом по группе «половозрелые». Примерно такие же результаты получены по бактериям родов *Flavobacterium* и *Vibrio*.

Таким образом, достоверность результата о преобладании особо опасных бактерий *A. salmonicida* у лососей из водоемов восточного побережья подтвердился статистическими методами. По условно-патогенным бактериям наличие связей «побережье – бактерии» возможно только по некоторым таксономическим группам микроорганизмов.

ВЫВОДЫ

1. Бактериологическими методами исследовали молодь и половозрелых тихоокеанских лососей пяти видов – горбушу *Oncorhynchus gorbuscha*, кету *O. keta*, нерку *O. nerka*, кижуча *O. kisutch*, чавычу *O. tshawytscha*, а также молодь гольца *Salvelinus malma*. Бактериоценозы лососевых рыб в естественных водоемах Камчатки формируют 19 видов бактерий, относящихся к семействам Vibrionaceae, Pseudomonadaceae, Staphylococcaceae, Enterobacteriaceae и Actinomycetacea; родам *Aeromonas*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Actinomyces*, *Flavobacterium*.

2. Выявление особо опасного бактериального патогена *A. salmonicida* у половозрелых рыб в бассейне р. Большая, р. Паратунка и оз. Азабачье свидетельствует о неблагоприятии этих водоемов в отношении возбудителя фурункулеза лососей.

3. Наибольшее эпизоотическое значение для рыб имеют представители рода *Aeromonas*. Массовое заболевание рыб бактериальной геморрагической септиемией (БГС), вызванное подвижными аэромонадами, регистрировали в оз. Начикинское в 2004 г., спорадические случаи БГС – в рр. Паратунка, Авача и в Карагинском заливе в течение всего периода исследований.

4. Бактерии видов *A. salmonicida*, *V. anguillarum*, *Actinomyces* sp., *A. hydrophila*, изолированные от камчатских лососей, обладают высокой степенью

вирулентности. Подвижные аэромонады *A. hydrophila* способны к восстановлению утраченных патогенных свойств после взаимодействия с организмом рыбы.

5. Наиболее широкий диапазон микроорганизмов, включая флавобактерии, энтеробактерии, стафилококки и актиномицеты, отмечали у рыб из водоемов, наиболее подверженных антропогенному прессу – рр. Авача и Паратунка.

6. Состав микрофлоры и суммарные показатели носительства условно-патогенных бактерий у рыб из водоемов восточного и западного побережий Камчатки были сходными. Особо опасный патоген *A. salmonicida* в три раза чаще встречался у лососей из водоемов восточного побережья.

7. В целом уровень бактерионосительства у исследованных лососей был невысок, поэтому эпизоотическую ситуацию в отношении условно-патогенных бактерий в естественных водоемах Камчатки можно считать удовлетворительной и наиболее благополучной — в оз. Курильское.

СПИСОК РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в научных журналах, рекомендованных ВАК

1. Сергеевко Н.В., Надеева О.А. Зараженность тихоокеанских лососей Камчатки патогенными агентами, влияющими на их товарное качество // Вопросы рыболовства. – 2007. – Т. 8. – № 3(31). – С. 547–558.

2. Устименко Е.А., Сергеевко Н.В. Возбудитель фурункулеза *Aeromonas salmonicida* у половозрелой нерки (*Oncorhynchus nerka* Walbaum) из оз. Азабачье // Вопросы рыболовства. – 2011. – Т. 12. – № 3(47). – С. 576–586.

3. Гаврюсева Т.В., Сергеевко Н.В., Устименко Е.А., Рязанова Т.В., Бочкова Е.В., Овчаренко Л.В., Грицких Е.А., Рудакова С.Л. Патогены гидробионтов Камчатки // Исслед. водн. биол. ресурсов Камчатки и сев.-зап. части Тихого океана. – Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО (принята в печать).

Публикации в других изданиях и материалы конференций

1. Сергеевко Н.В., Устименко Е.А., Пугаева В.П. Определение патогенности вибрионов, выделенных от горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) Карагинского залива // Исслед. водн. биол. ресурсов Камчатки и сев.-зап. части Тихого океана. – Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО, 2000. – Вып. 5. – С. 185–187.

2. Sergeenko, N.V., Ustimenko, E.A. 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. In: R.C. Cipriano, I.S. Shchelkunov (Eds.). 2005. P. 256–259.

3. Гаврюсева Т.В., Карманова И.В., Пугаева В.П., Рудакова С.Л., Сазонов А.А., Устименко Е.А., Сергеевко Н.В. Заболеваемость половозрелой горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha* W.) Карагинского залива // Тез. докл. I Областной науч.-практ. конф. «Проблемы охраны и рационального использования биоресурсов Камчатки». – Петропавловск-Камчатский, 1999. – С. 50–52.

4. Пугаева В.П., Сергеевко Н.В., Устименко Е.А. Патоген человека *Aeromonas hydrophila* у лососей Камчатки // Тез. докл. I Областной науч.-практ. конф. «Проблемы охраны и рационального использования биоресурсов Камчатки». – Петропавловск-Камчатский, 1999. – С. 86–87.

5. Устименко Е.А., **Сергеенко Н.В.** Эпизоотическая ситуация на Паратунском экспериментальном лососевом рыбозаводном заводе (Камчатка) // Тез. докл. IV регион. конф. по актуальным проблемам экологии, морской биологии и биотехнологии студентов, аспирантов и молодых ученых Дальнего Востока России. – Владивосток, 2001. – С. 120–121.

6. Карманова И.В., Пугаева В.П., Рудакова С.Л., Линева Г.П., Устименко Е.А., **Сергеенко Н.В.**, Гаврюсева Т.В. Пути проникновения патогенов молоди тихоокеанских лососей на рыбозаводные заводы Камчатки // Исслед. водн. биол. ресурсов Камчатки и сев.-зап. части Тихого океана. – Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО, 2002. – Вып. 6. – С. 303–307.

7. **Сергеенко Н.В.**, Устименко Е.А., Пугаева В.П. Общая для человека и рыб микрофлора, выявленная у половозрелых лососей из нерестовых водоемов Камчатки // Мат. межд. междисциплинарной конф. «Человек в прибрежной зоне: опыт веков». – Петропавловск-Камчатский. 2001. – С. 162–164.

8. **Sergeenko, N. V.**, Ustimenko, E.A. Characterization of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmobiciida* isolated from salmon spawned in hatcheries in Kamchatka // Second Bilateral conference “Aquatic and marine animal health”, Shepherdstown, West Virginia, USA, 21–28 September 2003. P. 49.

9. **Сергеенко Н.В.**, Устименко Е.А., Гаврюсева Т.В. Актиномицеты у лососевых рыб Камчатки // Стратегия развития аквакультуры в условиях XXI века: Мат. Межд. научно-практической конференции. – Минск: Изд.-во «Тонпик», 2004. – С. 347–350.

10. Рудакова С.Л., Устименко Е.А., Гаврюсева Т.В., **Сергеенко Н.В.**, Линева Г.П., Корнеева С.А., Бочкова Е.В. Эпизоотическая обстановка на ЛРЗ Камчатки и состояние здоровья производителей, используемых для воспроизводства тихоокеанских лососей в 2004 г. // Мат. Всерос. научн.-практ. конф.-семинара «Эпизоотический мониторинг в аквакультуре: состояние и перспективы». – М.: Россельхозакадемия, 2005. – С. 101–104.

11. **Сергеенко Н.В.**, Надеева О.А., Гаврюсева Т.В. Санитарно-эпидемиологическое состояние популяций тихоокеанских лососей Камчатки // Мат.-лы межд. конф. «Современное состояние водных биоресурсов». – Новосибирск: Агрос, 2008. – С. 387–391.

12. Карманова И.В., Устименко Е.А., **Сергеенко Н.В.** Проблемы изучения патогенных паразитов и бактерий промысловых видов лососей рода *Oncorhynchus* // Мат. I научн.-практ. конф. «Основные направления социально-экономического и демографического развития Камчатки, повышение качества жизни и качества образования». – Петропавловск-Камчатский: КамчатГТУ, 2009. – С. 30–35.

13. **Сергеенко Н.В.**, Овчаренко Л.В., Гаврюсева Т.В., Жукова Л.А. Патогены различной этиологии у горбуши Камчатки // Мат. III межд. конф. «Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов». – Борок, 2011. – С. 150–153.

Сергеенко Наталья Валентиновна

**БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛОСОСЕЙ
В ЕСТЕСТВЕННЫХ ВОДОЕМАХ КАМЧАТКИ**

*Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук*

Редактор И.В. Скрыпкина
Технический редактор О.А. Лыгина
Набор текста Н.В. Сергеенко
Верстка, оригинал-макет О.А. Лыгина

Подписано в печать 21.02.2012 г.
Формат 60*84/16. Печать цифровая. Гарнитура Times New Roman
Авт. л. 1,91. Уч.-изд. л. 2,0. Усл. печ. л. 2,79
Тираж 100 экз. Заказ № 70

Издательство
Камчатского государственного технического университета

Отпечатано участком оперативной полиграфии издательства КамчатГТУ
683003, г. Петропавловск-Камчатский, ул. Ключевская, 35