



005043940

На правах рукописи

Устименко Елена Александровна

**БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ У ТИХООКЕАНСКИХ ЛОСОСЕЙ
ПРИ ИСКУССТВЕННОМ ВОСПРОИЗВОДСТВЕ НА КАМЧАТКЕ**

03.02.06 — ихтиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

17 МАЙ 2012

Петропавловск-Камчатский
2012

Работа выполнена в ФГБОУ ВПО «Камчатский государственный технический университет» и Камчатском научно-исследовательском институте рыбного хозяйства и океанографии (КамчатНИРО)

Научный
руководитель: доктор биологических наук, профессор
Карпенко Владимир Илларионович

Официальные
оппоненты: Кузякина Тамара Ивановна, доктор биологических наук,
профессор, ФГБОУ ВПО «Камчатский государственный
технический университет», профессор

Токранов Алексей Михайлович, доктор биологических
наук, старший научный сотрудник, Камчатский филиал
Тихоокеанского института географии ДВО РАН, директор

Ведущая организация: Всероссийский научно-исследовательский институт пре-
сноводного рыбного хозяйства (ВНИИПРХ)

Защита состоится 29 мая 2012 г., в 11-00 часов, на заседании диссертацион-
ного совета Д 307.008.01 при Камчатском государственном техническом универ-
ситете по адресу: 683003, г. Петропавловск-Камчатский, ул. Ключевская, д. 35.
Факс (4152) 420-501.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Камчатского государст-
венного технического университета (г. Петропавловск-Камчатский, ул. Ленин-
градская, 41а), с авторефератом – на официальных сайтах Министерства образова-
ния и науки РФ (vak2.ed.gov.ru) и КамчатГТУ (www.kamchatgtu.ru).

Автореферат разослан 26 апреля 2012 г.

И. о. ученого секретаря
диссертационного совета
Д 307.008.01, д.б.н.



Е.Г. Лобков

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Тихоокеанские лососи являются ценным объектом рыболовного промысла и искусственного воспроизводства. В XX веке было отмечено значительное сокращение их численности. Методом ее восполнения, как в мире, так и на Дальнем Востоке России, является развитие системы лососевых рыбодонных заводов (ЛРЗ). Одной из причин, увеличивающих экономические потери в аквакультуре, стали болезни культивируемых объектов. Поэтому все большую важность приобретает изучение эпизоотической ситуации в водоемах и на рыбодонных заводах, определение этиологической роли возбудителей болезней и разработка мер борьбы с ними.

Эффективного воспроизводства на рыбодонных заводах невозможно достигнуть без эпизоотического мониторинга хозяйств: оценки состояния здоровья молоди и рыб-производителей, санитарно-микробиологического качества воды и кормов, а также целенаправленных мероприятий по профилактике и контролю заболеваний, в том числе бактериальных. От правильной и своевременной постановки диагноза зависит выбор лечебных препаратов и эффективность обработок, что позволяет избежать высоких потерь при выращивании рыб. Бактериальные заболевания лососей при искусственном выращивании изучали специалисты в России и за рубежом (Юхименко и др., 1984; Карасева, 2003; Вялова, Шкурина, 2005; Bullock et al., 1971; McCarthy, 1980; Wakabayashi et al., 1980; Austin, Austin, 1993, 2007).

До 1994 г. работу по исследованию эпизоотического состояния лососевых рыбодонных заводов Камчатки осуществляли сотрудники Дальневосточной зональной ихтиопатологической инспекции (г. Южно-Сахалинск) (Шкурина, Полтева, 2000). Однако комплексных микробиологических исследований молоди и производителей лососей, а также воды и кормов, используемых на ЛРЗ Камчатки, они не проводили.

Для борьбы с бактериальными заболеваниями в аквакультуре с начала XXI века стали применять пробиотические препараты, способные повысить иммуно-физиологический статус рыб, сделать их менее уязвимыми к болезням (Юхименко и др., 2009). Предлагаемые в настоящее время на российском рынке пробиотики были апробированы в основном на объектах прудового рыбодонства. Исследований по применению таких препаратов для тихоокеанских лососей на Камчатке до настоящего времени не было.

Цель работы – выявить у тихоокеанских лососей бактериальные инфекции, снижающие эффективность искусственного воспроизводства, и определить методы борьбы с ними.

Для ее достижения были поставлены следующие задачи:

- провести бактериологические исследования молоди и производителей тихоокеанских лососей на ЛРЗ и выявить микроорганизмы, имеющие основное эпизоотическое значение для рыб;
- диагностировать бактериальные заболевания у молоди лососей на ЛРЗ;
- оценить санитарное состояние воды, поступающей на рыбодонные заводы, и качество кормов по микробиологическим показателям;
- выявить условия и факторы, способствующие возникновению и развитию заболеваний у заводских лососей;
- определить чувствительность бактериальных патогенов к антибиотикам и эффективность использования на заводах пробиотика при выращивании молоди лососей.

Научная новизна. В работе обобщены данные по бактериальным патогенам, выявленным у тихоокеанских лососей на рыбоводных заводах Камчатки. Описан патогенез псевдомоноза и жаберной болезни, диагностированных у молоди лососей на заводах полуострова. Определены факторы, способствующие возникновению и развитию бактериальных инфекций у заводских сеголеток лососей и пути заражения рыб на лососевых рыбоводных заводах. Дана микробиологическая оценка воды и кормов, используемых на камчатских ЛРЗ. Показано негативное влияние кормов и воды, контаминированных микроорганизмами, на состояние здоровья заводской молоди лососей. Выявлена чувствительность и устойчивость возбудителей заболеваний к антибактериальным препаратам. Оценена эффективность применения пробиотика «СУБ-ПРО» (ООО Вектор-Евро, Москва) для тихоокеанских лососей, выращиваемых в условиях низкой температуры.

Теоретическое и практическое значение. В результате настоящих исследований определен спектр микрофлоры и выявлены микроорганизмы, имеющие эпизоотическое значение для тихоокеанских лососей на рыбоводных заводах Камчатки. В связи с выявлением на ЛРЗ бактериальных заболеваний показана необходимость проведения регулярных обследований заводских рыб. Данные о бактериальных патогенах, их встречаемости, распространении и чувствительности к антибиотическим препаратам позволили предложить методы профилактики и лечения, которые способствуют снижению смертности рыб на ЛРЗ Камчатки. В дальнейшем показана необходимость проведения экспериментов по эффективности применения пробиотиков перед их использованием для конкретных видов рыб и при соответствующих условиях выращивания.

Результаты исследований могут быть использованы в лекционных курсах и лабораторных занятиях по ихтиопатологии в вузах региона.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Бактериальные инфекции у молоди тихоокеанских лососей на ЛРЗ Камчатки вызываются условно-патогенными бактериями, являющимися представителями водной микрофлоры.

2. В этиологической структуре патогенов, выделенных от рыб разных видов и заболеваний, вызванных ими, отмечаются различия.

3. Эпизоотическая ситуация на ЛРЗ ухудшается при поступлении с водой из естественных водоемов условно-патогенной микрофлоры и обсемененности кормов стафилококками и дрожжеподобными грибами.

4. Повышению эффективности воспроизводства тихоокеанских лососей способствует снижение уровня бактериальной обсемененности воды, улучшение качества кормов и соблюдение санитарно-гигиенического режима на ЛРЗ.

Личный вклад. Автором собран, обработан и проанализирован материал, использованный в работе. Непосредственно соискателем проведено планирование работ, подготовка и проведение эксперимента, а также обобщение полученных результатов.

Апробация работы. Материалы диссертации были доложены на научно-практической конференции «Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре» (Москва, 2000), IV 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» (Шеффердстоун, Западная Вирджиния, США, 2003); всероссийской научно-практической конференции-семинаре

«Эпизоотический мониторинг в аквакультуре: состояние и перспективы» (Москва, 2005); международном научно-практическом семинаре «Современные проблемы лососевых рыбоводных заводов Дальнего Востока» (Петропавловск-Камчатский, 2006); международной конференции «Современное состояние водных биоресурсов» (Новосибирск, 2008); международной конференции «Стратегия развития аквакультуры в современных условиях» (Минск, 2008); всероссийской конференции с международным участием «Проблемы и перспективы использования водных биоресурсов Сибири в XXI веке» (Красноярск, 2008); международной научной конференции «Воспроизводство естественных популяций ценных видов рыб» (Санкт-Петербург, 2010); международной конференции «Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов» (Борок, 2011).

Публикации. По теме диссертации опубликованы 22 работы, в том числе две в изданиях, рекомендуемых ВАК.

Структура диссертации. Диссертация состоит из введения, шести глав, выводов, списка литературы и содержит 20 таблиц, 24 рисунка. Список использованной литературы включает 210 источников, в том числе 119 иностранных. Общий объем работы — 143 страницы.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность за помощь и ценные советы при подготовке работы научному руководителю д.б.н., профессору В.И. Карпенко. Приношу искреннюю благодарность коллегам по лаборатории болезней рыб и беспозвоночных КамчатНИРО за помощь и поддержку на всех этапах работы, а также сотрудникам лососевых рыбоводных заводов за содействие при мониторинговых исследованиях. Особая благодарность директору ЛРЗ «Кеткино» В.А. Точилину и главному рыбоводу Н.Г. Винник за помощь при проведении эксперимента. Автор очень признательна к.б.н. Т.В. Гаврюсовой за предоставленные данные гистологических исследований. Большую помощь и поддержку в течение всего периода работы оказывала н.с. Н.В. Сергеенко.

ГЛАВА 1. КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЪЕКТОВ ИСКУССТВЕННОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА, ЛОСОСЕВЫХ РЫБОВОДНЫХ ЗАВОДОВ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛОСОСЕЙ

Среди промысловых рыб Дальнего Востока тихоокеанские лососи являются самыми ценными видами. На Камчатке обитают все шесть видов лососей р. *Oncorhynchus* – это кета (*O. keta*), горбуша (*O. gorbuscha*), нерка (*O. nerka*), чавыча (*O. tshawytscha*), кижуч (*O. kisutch*), а также реже встречающийся вид – сима (*O. masou*), характерный только для азиатского побережья Северной Пацифики (Богданов и др., 2005). В связи со значительным сокращением численности популяций лососей в настоящее время особое внимание уделяется искусственному воспроизводству. На Дальнем Востоке России находится более 50 ЛРЗ, большинство из них на Сахалине (Смирнов и др., 2006). На Камчатке в 1990-х годах были построены или реконструированы 5 лососевых рыбоводных заводов — Малкинский (МЛРЗ), «Озерки» (ОЛРЗ), «Кеткино» (КЛРЗ), Паратунский (ПЛРЗ) и Виллоиский (ВЛРЗ), где воспроизводят кету, нерку, чавычу и кижуча. Заводское рыбозаведение состоит из нескольких стадий: вылов половозрелых лососей, изъятие у самок икры и ее искусственное оплодотворение, закладка оплодотворенной икры в инкубаторы, подращивание мальков в рыбоводных емкостях или садках, выпуск молоди в естественные водоемы на нагул.

На Камчатке кету воспроизводят на ПЛРЗ, КЛРЗ, ВЛРЗ и ОЛРЗ, нерку – на МЛРЗ и ОЛРЗ, кижуча – на ВЛРЗ и иногда на ПЛРЗ. Водоснабжение на заводах в основном самотечное, ключевое и русловое. Средняя температура воды при инкубации икры 3,2–4,9°C, при подраживании молоди лососей – 3,5–4,5°C. На МЛРЗ и ПЛРЗ существует система подогрева поступающей воды с помощью тепла геотермальных источников. На ПЛРЗ воду при выращивании кеты подогревают до 4–5°C, кижуча — до 6–14°C, чавычи и нерки на МЛРЗ – до 7–9°C. Суммарный выпуск молоди лососей с заводов на Камчатке в период 2000–2007 гг., по данным Севострыбвода, составил более 220 млн. экз., из них: кеты – 158, нерки – 50, кижуча – 6, чавычи – 5. Анализ, проведенный Г.В. Запорожец и О.М. Запорожцем (2011) показал, что эффективность искусственного воспроизводства нерки наиболее высока на МЛРЗ, а доля заводских рыб в возврате производителей кеты на ПЛРЗ достигает в среднем 65%.

Ни одной стране мира, развивающей искусственное воспроизводство рыб, не удалось избежать проблем, связанных с их болезнями, которые существенно снижают производственный потенциал аквакультуры и являются серьезным фактором, сдерживающим ее развитие. Большинство бактерий, вызывающих заболевания рыб, являются оппортунистическими патогенами, которые поражают гидробионтов, ставших чувствительными к инфекции в результате стрессовых факторов или других заболеваний. Несколько видов бактерий являются особо опасными патогенами лососей. Это возбудители фурункулеза и бактериальной почечной болезни – *Aeromonas salmonicida* и *Renibacterium salmoninarum*.

Развитие клинических заболеваний у рыб чаще провоцируют следующие стрессовые факторы: вода с высоким содержанием органических веществ, способствующих быстрому размножению бактерий, резкое изменение температуры, высокая плотность посадки, травмы и транспортировка.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для настоящего исследования послужила молодь и производители тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus*, отобранные на 5 ЛРЗ Камчатки за период 2000–2007 гг. (табл. 1). Всего обследовали 5431 экз. заводской молоди и половозрелых рыб. Кроме этого, проводили бактериологический анализ проб воды и кормов. В 2000 г. исследовали икру и воду в инкубаторе ПЛРЗ. В 2010 г. в ходе эксперимента тестировали 90 мальков кеты на ЛРЗ «Кеткино».

Таблица 1

Количество обследованных рыб в 2000–2007 гг.

Вид рыбы	Количество, экз.								Всего
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	
Молодь									
Чавыча	120	90	60	120	30	30	45	0	495
Нерка	180	110	190	202	229	45	135	0	1091
Кета	480	330	360	330	345	166	90	0	2101
Кижуч	0	120	180	90	215	16	0	0	621
Всего	780	650	790	742	819	257	270	0	4308
Производители									
Чавыча	27	20	30	30	30	27	0	30	194
Нерка	15	60	60	60	60	60	60	60	435
Кета	50	50	90	120	120	30	0	0	460
Кижуч	15	0	0	0	19	0	0	0	34
Всего	107	130	180	210	229	117	60	90	1123

Молодь лососей обследовали после рассасывания желточного мешка в начале экзогенного питания и за 10–14 дней перед выпуском в открытые водоемы. Выборки составляли 30 или 60 особей. Пробы от лососей-производителей брали сразу после изъятия половых продуктов.

Рыб подвергали стандартному биологическому анализу (Правдин, 1966), после чего регистрировали патологические изменения, руководствуясь методами, рекомендованными отечественными и зарубежными исследователями (Лабораторный практикум..., 1983; Methods..., 1989). От молоди рыб делали посеы из почки и печени, иногда, жабр, от производителей – из почки и язв (при их наличии) на универсальную питательную среду Tryptone Soya Agar – TSA (Serva). Инкубировали первичные посеы при 18–23°C. Для выявления особо опасных патогенов использовали селективные среды (Austin et al., 1983; Cipriano, Bertolini, 1988). Для выявления флюоресцирующих бактерий рода *Pseudomonas* применяли *Pseudomonas* F агар (Merck). Аэромонад дифференцировали от вибрионов по чувствительности к вибриостатическому агенту (0/129) и/или к новобиоцину. Для определения ДНКазной активности аэромонад использовали DNase agar (Oxoid).

Общее микробное число воды (ОМЧ) определяли методом прямого подсчета колоний на чашках с агаром (Методы санитарно-микробиологического анализа..., 1997). Анализ кормов выполняли с использованием метода десятикратных серийных разведений с последующим посевом на TSA и Сабуро агар. Общее микробное число (ОМЧ) рассчитывали по количеству выросших колоний и выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ) на 1 г корма или 1 мл воды.

При изучении бактерий применяли методы, принятые в ихтиопатологии (Stevenson, 1989). Биохимическое тестирование проводили с использованием тест-систем: API 20NE, API 20E, API STAPH (BioMerieux). По «Определителю бактерий Берджи» (Bergey's manual..., 2004) устанавливали таксономическую принадлежность микроорганизмов.

Антибиотическую чувствительность бактерий определяли дисковым методом диффузии в агар на среде Мюллер-Хинтон (Oxoid). Для этого использовали антибиотики (мкг/диск): канамицин (30), тетрациклин (30), стрептомицин (10), левомицетин (30), фурадонин (300), гентамицин (10) и полимиксин (300 ед.). Регистрировали диаметр зоны подавления роста бактерий в миллиметрах и интерпретировали чувствительность согласно методическим рекомендациям (Зуева и др., 2004). Определяли количество изолятов бактерий, чувствительных и устойчивых к антибиотикам.

Влияние пробиотика «СУБ-ПРО» (ООО «Вектор-Евро», Москва) на рыб изучали на сеголетках кеты массой 0,4–0,5 г. Опыт проводили в период с 31 марта по 12 апреля 2010 г. при температуре воды 3,7–4,0°C. Препарат вводили, в соответствии с инструкцией по применению, путем орошения гранул корма из расчета 1 доза на 50 кг биомассы рыб. Осуществляли три отбора по 15 особей из опытного и контрольного бассейнов — за день до начала кормления обработанным кормом, на третий день включения в рацион препарата и через три дня после окончания кормления рыб. Статистическую обработку данных проводили в программе Microsoft Office Excel 2007 и «STATISTICA 6».

ГЛАВА 3. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И МИКРОФЛОРА МОЛОДИ И ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ЛОСОСЕЙ НА ЛРЗ

Представлены результаты биологического анализа молоди и производителей тихоокеанских лососей – длина, масса тела, коэффициент упитанности по Фульто-ну ($У_f$) (табл. 2). Связи между биологическими показателями лососей и наличием у них бактериальной флоры не выявили. В течение всего периода исследований у молоди рыб на заводах отмечали признаки алиментарного токсикоза (Устименко и др., 2003; Гаврюсева, 2006), под воздействием которого могут меняться масса и коэффициент упитанности особей.

Таблица 2

Средние биологические показатели (min–max) обследованных рыб

Вид рыбы	Средняя длина AD, см (min–max)	Средняя масса, г (min–max)	$У_f$ (min–max)
молодь			
Кета	3,79 ± 0,24 (2,4 – 5,62)	0,60 ± 0,13 (0,17 – 1,27)	0,56 – 1,26
Кижуч	4,81 ± 0,38 (3,02 – 9,71)	2,77 ± 0,59 (0,31 – 14,1)	0,94 – 1,61
Нерка	3,7 ± 0,21 (2,1 – 7,68)	0,86 ± 0,19 (0,11 – 3,87)	0,54 – 1,83
Чавыча	5,89 ± 0,67 (3,03 – 8,21)	3,29 ± 1,00 (0,41 – 8,21)	0,88 – 1,56
половозрелые			
Кета	62,3 ± 4,1 (59,5 – 64,9)	3241,8 ± 729,7 (2503 – 4333)	0,84 – 1,61
Кижуч	59,1 ± 6,0 (55,6 – 62,5)	2881,56 ± 828,5 (2545 – 3217)	1,31 – 1,63
Нерка	58,4 ± 3,95 (55,3 – 63,0)	2752,0 ± 516,2 (2264 – 3128)	1,19 – 1,62
Чавыча	80,5 ± 9,0 (69,8 – 87,1)	7956,9 ± 2205,5 (7164 – 10712)	1,35 – 1,63

В связи с этим определить влияние непосредственно бактериальной флоры на рыбоводно-биологические показатели обследованных лососей не представляется возможным.

ПЛРЗ. У молоди кеты регистрировали нарушение координации движений, проявлявшееся в плавании на боку вокруг своей оси, наличие сапролегниевых грибов на грудных плавниках, пигментных пятен на голове, спине и хвостовом стебле, ослизнение жабр. При вскрытии отмечали анемию и дряблость печени и почки, наличие сгустков крови в полости тела. Внешние и внутренние признаки патологии наблюдали у 1,7–5% рыб. Среди изолированной микрофлоры преобладали условно-патогенные бактерии, являющиеся обычными представителями микробиоценоза водной среды. Псевдомонады *Pseudomonas fluorescens* встречались в разные годы у 3,3–24,4% кеты. В 2001–2002 гг. у 1,1–18,9% молоди кижуча без внешних патологических изменений выявили носительство псевдомонад, флаво-бактерий и энтеробактерий.

В 2000 и 2004 гг. у 33 и 30% производителей кеты соответственно отмечали язвы на голове и спине. Микрофлору, изолированную от этих рыб, составляли *P. fluorescens* и подвижные аэромонады *Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*. Последние доминировали в течение всего периода исследований. Их встречаемость у рыб составила 13,3–43,3%. Установлена высокая степень вирулентности *A. hydrophila* по их ДНКазной активности. В 2000 г. регистрировали бессимптомное носительство атипичных (беспигментных) штаммов *A. salmonicida* у 6,7% производителей кеты.

МЛРЗ. От молоди нерки ежегодно изолировали условно-патогенные бактерии. Асимптоматическое носительство псевдомонад *P. fluorescens*, *P. putida* варьировало в разные годы от 3,3 до 12,9%, *Flavobacterium psychrophilum* – 2,7–6,7%, за исключением 2003 г., когда в апреле – мае у рыб регистрировали смешанную бактериальную инфекцию, вызванную псевдомонадами и флавобактериями. В этом году патогенную микрофлору изолировали от 43,8% рыб. В 2003–2004 гг. у молоди чавычи и нерки выявили капсульные псевдомонады *P. fluorescens* var *capsulata*, имеющие особое эпизоотическое значение. Многолетние исследования сотрудников ВНИИПРХ показали, что капсулообразующие псевдомонады могут служить индикаторами эпизоотической ситуации в рыбоводном хозяйстве (Юхименко и др., 1998). В наших исследованиях встречаемость бактерий у молоди чавычи была низкой, что связано, возможно, с регулярной обработкой рыб антибиотиками в виде ванн и добавки их в корм.

В микрофлоре лососей-производителей преобладали условно-патогенные бактерии – псевдомонады и подвижные аэромонады. Их изолировали от 3,3–35% чавычи и 3,3–40% нерки. В 2002 г. у 6,7% производителей нерки выявили носительство опасного патогена *A. salmonicida*.

КЛРЗ. У кеты при визуальном осмотре и вскрытии патологических изменений не регистрировали, за исключением 2004 г., когда у 90% рыб наблюдали изменение консистенции печени и расширение кровеносных сосудов, у 10% – зеленатое, в виде комков содержимое кишечника и рыхлую почку. Повышенный отход (до 100 экз./сут.) начался через несколько дней после начала кормления. Гистологическими методами у этих рыб были выявлены тяжелые патологические изменения в желудочно-кишечном тракте, характерные для алиментарных нарушений (Гаврюсева, 2006). Они ослабляют организм рыб и повышают восприимчивость к заболеваниям различной этиологии, в том числе бактериальным. В этом же году у 25,6% молоди кеты выявили бессимптомное носительство атипичных штаммов патогена *A. salmonicida* и зарегистрировали самую высокую (95,7%) за весь период исследований встречаемость псевдомонад *P. fluorescens* в ассоциации с подвижными аэромонадами *A. hydrophila* и *A. caviae*. Показатели патогенности аэромонад по ДНКазной активности были невысокими. Поскольку вирулентность бактерий была низкой, а температура не оптимальной для развития инфекционно-го процесса, вспышки заболевания не произошло.

За весь период исследований от молоди рыб изолировали псевдомонады (6,7–54%), подвижные аэромонады (1,1–17,6%), флавобактерии (1,1–1,7%), энтеробактерии (0,8–2,2%).

Производители кеты внешних патологических изменений не имели. Аэромонады изолировали от 10–40%, псевдомонады – от 13,3–16,7%, флавобактерии – от 6,7% рыб. Преобладающей микрофлорой были подвижные аэромонады.

ВЛРЗ. У молоди кеты и кижуча ежегодно регистрировали единичных особей с нарушением координации движений, пигментными пятнами на голове, спине и хвостовом стебле. Среди выявленной микрофлоры преобладали псевдомонады *P. fluorescens*, которые изолировали ежегодно у 1,1–30,0% рыб. В 2005 г. до 100% молоди кижуча были контаминированы этими бактериями. От кеты и кижуча на данном заводе ежегодно и в большем количестве ($p < 0,001$), по сравнению с другими ЛРЗ, изолировали бактерии рода *Flavobacterium*, в том числе, *F. psychrophilum* (1,1–26,1%). В 2004 г. ассоциация псевдомонад с флавобактериями вызвала заболевание жабр у молоди кижуча.

У производителей кеты (р. Паратунка) и кижуча (оз. Большой Виллой) внешних и внутренних патологических изменений не обнаружили. Среди изолированной от кеты микрофлоры преобладали подвижные аэромонады (6,7–25%), псевдомонады (23,3%) и флавобактерии (6,7–20%). В 2001 г. у производителей кеты выявили бессимптомное носительство патогена *A. salmonicida*. От производителей кижуча из солоноватого озера Большой Виллой кроме псевдомонад *P. fluorescens* и аэромонад *A. hydrophila* выделили вибрионы *Vibrio* sp. (31,6%).

ОЛРЗ. При визуальном осмотре и вскрытии молоди кеты патологических изменений не регистрировали. В 2002 и 2004 гг. у 11,1% и 1,1% рыб этого вида соответственно выявили асимптоматическое носительство беспигментных штаммов *A. salmonicida*. Кроме того, в 2002 г. у кеты зарегистрировали самую высокую за весь период исследований встречаемость псевдомонад *P. fluorescens* – 30%. В этом же году у молоди нерки наблюдали дистрофию и повышенный отход. В 2003 г. также при повышенном отходе у рыб этого вида диагностировали псевдомоноз. Асимптоматическое носительство *P. fluorescens*, *P. putida* составило в разные годы 0,8–25%, *F. psychrophilum* – 0,8–6,7%.

При обследовании лососей-производителей в 2002 г. у 3,3% кеты и в 2004 г. у такого же количества нерки регистрировали язвенные поражения кожи. При патологоанатомическом вскрытии этих рыб отмечали кровоизлияния в печени и молоках. От кеты с язвенными поражениями кожи изолировали высоковирулентные штаммы *A. hydrophila*. У обоих видов лососей выявили патоген *A. salmonicida* (3,3–10%) и условно-патогенные бактерии. В спектре микрофлоры преобладали подвижные аэромонады (3,3–36,7%) и псевдомонады (3,3–30%).

У молоди лососей при сравнении встречаемости микрофлоры по видам рыб отмечали значительное превалирование псевдомонад (рис. 1А). У кеты, кижуча и нерки их встречаемость существенно не различалась (16,4, 15,6, 15,2% соответственно), а у чавычи была достоверно ниже (6,9%, $p < 0,001$). Весь спектр обнаруженной при наших исследованиях микрофлоры был выявлен у молоди кеты, менее всего бактерий отмечали у чавычи. Носительство *A. salmonicida* установили только у молоди кеты (0,2%). У производителей лососей при сравнении микрофлоры по видам рыб установили, что у кижуча, нерки и чавычи преобладающими были псевдомонады (рис. 1Б).

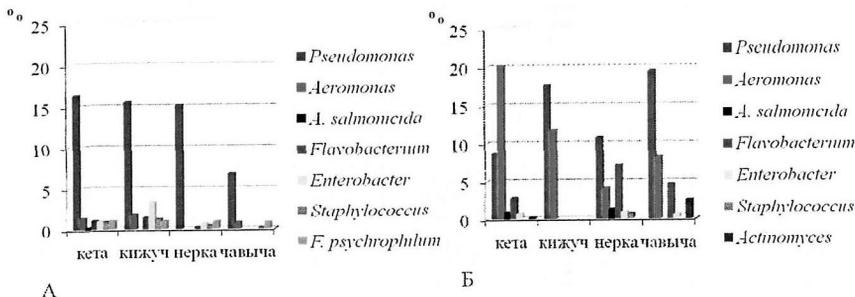


Рис. 1. Встречаемость бактерий по видам лососей на ЛРЗ: А – молодь, Б – производители

Кроме того, у двух последних видов значительную долю в микрофлоре также составляли флавобактерии. Однако достоверно большее их количество регистрировали только у нерки ($p < 0,05$). Псевдомонады и флавобактерии относятся к

психрофильным бактериям. У кеты же на всех заводах в основном преобладали теплолюбивые подвижные аэромонады ($p < 0,05$). Этот факт можно объяснить тем, что заход в реки на нерест нерки и чавычи происходит в конце мая – июне, а кижуча – в октябре, когда температура воды довольно низкая (2–8°C). В период захода в водоемы кеты вода в них прогревается, возрастает концентрация органических веществ, что способствует активному размножению аэромонад.

По результатам исследований преобладающей микрофлорой у молоди лососей на всех заводах были бактерии рода *Pseudomonas* (рис. 2А).

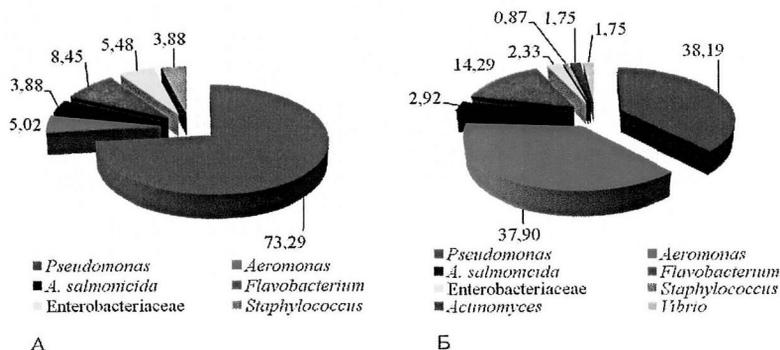


Рис. 2. Микрофлора, выявленная у лососей на ЛРЗ Камчатки: А – молодь, Б – производители

Далее в порядке убывания – аэромонады и флавобактерии. Доля бактерий других видов среди всей выделенной микрофлоры не превышала 6%. У производителей лососей на всех заводах чаще всего в порядке убывания встречались представители родов *Pseudomonas*, *Aeromonas* (*A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*), *Flavobacterium*. Доля псевдомонад и аэромонад в микрофлоре этих рыб существенно не различалась ($p > 0,05$) (рис. 2Б). Реже изолировали флавобактерии. Доля *A. salmonicida* среди общей микрофлоры молоди и производителей лососей составила 3,88 и 2,92% соответственно. В течение периода исследований у молоди тихоокеанских лососей ни на одном рыболовном заводе Камчатки не было зафиксировано заболеваний, вызванных особо опасными патогенами, такими как *Renibacterium salmoninarum* и *A. salmonicida*. Однако бессимптомное носительство атипичных *A. salmonicida* отмечали у молоди кеты на КЛРЗ и на ОЛРЗ (табл. 3). Типичные и атипичные штаммы *A. salmonicida* выделяли от производителей кеты и нерки на ОЛРЗ. Эти данные указывают на наличие в бассейне р. Большая природного очага инфекции. Таким образом, вероятность вспышки фурункулеза у молоди лососей на ОЛРЗ выше, чем на других ЛРЗ.

Таблица 3

Встречаемость (%) *A. salmonicida* у тихоокеанских лососей на ЛРЗ

Завод	Вид рыбы, стадия развития	Год				
		2000	2001	2002	2003	2004
ПЛРЗ	Кета, половозрелая	3,3	0	0	0	0
КЛРЗ	Кета, молодь	0	0	35,0	0	0
ВЛРЗ	Кета, половозрелая	0	3,3	0	0	0
МЛРЗ	Нерка, половозрелая	0	0	6,7	0	0
ОЛРЗ	Кета, молодь	0	–	16,7	0	1,7
	Кета, половозрелая	0	0	1,9	3,3	0
	Нерка, половозрелая	0	10,0	0	0	3,3

При определении патогенных свойств по ДНКазной активности бактерии *A. salmonicida* оказались авирулентными и слабовирулентными. Несмотря на это, а также отсутствие характерных признаков бактериального заболевания, мы не исключаем определенного патогенного воздействия выделенных бактерий, так как гистологическими методами у этих рыб в почках отмечали кровоизлияния и гранулемы (Гаврюсева, 2006).

Вспышки заболеваний фурункулезом среди выращиваемых рыб чаще всего связаны с повышением температуры и низким уровнем кислорода в воде, а также с высокой плотностью посадки (Fish pathology, 1989). Так как на ОЛРЗ температура воды находилась на уровне 4°C, а содержание кислорода и плотность посадки в течение всего периода исследований не превышали нормы, то в данном случае вероятность заболевания была низкой.

По нашим данным, основным фактором, сдерживающим развитие заболеваний бактериальной этиологии у молоди лососей на ЛРЗ, является низкая температура воды. Оптимальная температура для бактерий, в том числе холодолюбивых, находится в пределах 4–15°C. На всех заводах, кроме МЛРЗ, она не превышала 4°C в течение всего периода подраживания рыб. Распространению бактериальных инфекций препятствовали также регулярные антибактериальные обработки рыб, проводимые на заводах.

ГЛАВА 4. ЗАБОЛЕВАНИЯ МОЛОДИ ЛОСОСЕЙ, ВЫЗВАННЫЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ФЛОРОЙ

Псевдомоноз. В 2003 г. у молоди нерки на ОЛРЗ при отсутствии клинических признаков заболевания регистрировали повышенный отход, при этом отмечали желто-зеленое слизистое содержимое в полости тела и кишечнике. Из печени и почек 46,7% рыб изолировали бактерий, идентифицированных как *P. fluorescens*. Псевдомонады высевали в основном в чистой культуре, в редких случаях в ассоциации с микроорганизмами родов *Pseudomonas*, *Pasteurella*, семейства Enterobacteriaceae. Поставили диагноз – псевдомоноз. Заболевание развивалось в острой форме с быстрым ростом числа погибших рыб. Антибактериальные препараты подбирали на основе исследования чувствительности к ним выделенных штаммов псевдомонад, которая проявилась к канамицину, полимиксину, стрептомицину, левомицетину. Лечение с применением левомицетина в сочетании с сульгином и аскорбиновой кислотой было эффективным. Отход рыб снизился. Ранее, при псевдомонозе, диагностированном у лососей на МЛРЗ и ОЛРЗ, эффективным лечебным средством для молоди был признан тетрациклин в сочетании с сульфантролом (Вялова, Шкуррина, 1995). Заболевание псевдомонозом среди культивируемых рыб – обычно результат нарушений технологического процесса или стресса. В 2003 г. из-за малоснежной зимы значительно снизился уровень воды в реке, питающей ОЛРЗ, и на заводе возникла проблема нехватки воды. Ее недостаток привел к ухудшению гидрохимического режима и снижению резистентности рыбы. По-видимому, эта стрессовая ситуация послужила толчком для заболевания рыб псевдомонозом.

Жабрное заболевание. В течение периода обследования у молоди кижуча на ВЛРЗ отмечали загрязненность жабр частицами ила, диатомовыми водорослями и грибами рода *Saprolegnia*, что указывает на неудовлетворительное качество поступающей воды. Также, по нашему мнению, недостатком является каскадное расположение взрослых емкостей, которое приводит к накоплению загрязните-

лей неорганического и органического происхождения, особенно в бассейнах нижнего уровня, и создает благоприятные условия для размножения патогенов и развития заболеваний различной этиологии.

В 2004 г. у молоди кижуча регистрировали признаки жаберного заболевания. При повышенном отходе у рыб отмечали отечность жабр (рис. 3А), при вскрытии – бледность и рыхлость паренхиматозных органов.



Рис. 3. Признаки заболевания у молоди кижуча при жаберном заболевании на ВЛРЗ:

А – приоткрытые жаберные крышки (↑); Б – гиперплазия респираторного эпителия, слияние жаберных ламелл, скопление бактерий (↑) (×400, Циль-Нильсен), ЖФ – жаберные филаменты

При бактериологических посевах на жабрах выявили псевдомонады *P. fluorescens* и флавобактерии *F. psychrophilum*. Из внутренних органов бактериальных патогенов не выделили. При гистологических исследованиях у этих лососей обнаружили: интерстициальный отек, обширную гиперплазию респираторного эпителия и слипание жаберных ламелл. Между жаберными филаментами и на поверхности жаберных ламелл отмечали скопление нитевидных грамотрицательных бактерий (рис. 3Б).

На основании полученных результатов у молоди кижуча предположили жаберную болезнь, вызванную смешанной бактериальной флорой. Установили чувствительность выделенных патогенов к антибиотикам. Провели 6-кратную антибактериальную обработку, после чего отход рыб снизился. Часть молоди кижуча была выпущена, а остальные оставлены для подращивания на заводе. Через две недели при повышенном отходе у рыб из бассейна нижнего уровня регистрировали нарушение координации движения, отечность, ослизнение и гиперемии жабр, вследствие чего жаберные крышки были приоткрыты. При вскрытии наблюдали бледность и рыхлость печени и почек. Отмечали зараженность всех особей кижуча простейшим паразитом *Ichtyobodo necator* с высокой интенсивностью инвазии. Был поставлен диагноз – ихтиободоз (Линева, 2004). У 80% рыб на жабрах выявили смешанную бактериальную флору – *P. fluorescens* и *A. hydrophila*. У 26,7% рыб из печени и почки выделили указанные псевдомонады, а у 6,7% – аэромонады и сапролегниевые грибы. Установили высокую вирулентность выделенных штаммов аэромонад по стелени ДНКазной активности. Для лечения молоди кижуча рекомендовали проведение антипаразитарной (формалин) и антибактериальной обработки (канамицин в корм). Спустя два месяца у этого вида рыб вновь регистрировали вспышку бактериального жаберного заболевания со сходными клиническими признаками. Суммарное воздействие бактериальных патогенов и паразитов при неблагоприятных условиях содержания рыб привели к повышенной гибели моло-

ди лососей. После каждой обработки наблюдали временное улучшение состояния здоровья молоди кижуча и снижение отхода. Однако оставались неизменными факторы, способствующие развитию заболевания, и происходили новые вспышки инфекции, при которых увеличивалось количество бактериальных патогенов.

Смешанная бактериальная инфекция. В 2003 г. на МЛРЗ у молоди нерки без клинических признаков заболевания отмечали повышенный отход. От 40% рыб из печени и почек были изолированы псевдомонады *P. fluorescens*, в том числе капсулообразующие. Была установлена высокая гемолитическая активность *P. fluorescens* v. *capsulata*, что указывает на их патогенность. В дальнейшем увеличился отход и возросла доля рыб, из внутренних органов которых выделили псевдомонады. Был диагностирован псевдомоноз. После определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам и проведенного лечения гибель лососей снизилась. Через месяц у рыб при повышенном отходе регистрировали отечность жабр. В посевах из них были выявлены псевдомонады, в том числе капсулообразующие, а также бактерии рода *Flavobacterium* (*F. psychrophilum* и *F. indologenes*). Обсемененность псевдомонадами паренхиматозных органов и жабр рыб в сочетании с клиническими признаками дали основание рассматривать их в качестве возбудителей, спровоцировавших гибель рыб. По-видимому, флавобактерии колонизировали жабры рыб, ослабленных псевдомонадной инфекцией.

Мы полагаем, что образование капсулы у бактерий *P. fluorescens* стало ответной реакцией на частое, не всегда обоснованное применение антибиотиков для профилактических обработок рыб. Зачастую на заводах используют тот антибиотик, который есть в наличии, поэтому лечение не всегда эффективно. По-видимому, такая ситуация в 2003 г. была на МЛРЗ, когда для лечения молоди нерки применяли три разных антибиотика, и процесс выздоровления затянулся по времени.

Бактериальное поражение икры. В 2000 г. на ПЛРЗ в связи с высокой гибелью инкубируемой икры на стадии «глазка» провели её бактериологическое исследование. Пораженная икра имела полупрозрачную, рыхлую, размягченную оболочку белесого оттенка. Вся икра была покрыта сапролегниевыми грибами.

Результаты наших исследований показали, что 95–100% икры было заражено грибами, паразитами (Линева, 2004) и патогенными для рыб видами бактерий (*A. hydrophila*, *P. fluorescens*, *F. psychrophilum*) с преобладанием аэромонад. Показатель обсемененности воды, поступающей в инкубатор, составил 600 КОЕ/мл, а проб, отобранных непосредственно из инкубатора, – 7900 КОЕ/мл. В поступающей воде присутствовали бактерии *F. psychrophilum* (43,3%) и псевдомонады разных видов. Вероятно, причиной бактериального поражения икры стала неэффективная обработка при закладке ее в инкубатор. У лососей-производителей отмечали язвы на теле, а у 33,3% были выявлены высоковирулентные штаммы *A. hydrophila*. Так как в воде из инкубатора преобладали подвижные аэромонады, которые отсутствовали в поступающей воде, можно предположить, что заражение икры произошло от производителей. За период инкубации 2000–2001 гг. отход икры составил 17,8%, что вдвое превышало этот же показатель на заводе за предыдущий год.

Через три месяца при обследовании мальков кеты на ПЛРЗ наблюдали анемию и дряблость печени и почек, а также расширение кровеносных сосудов печени и наличие сгустков крови в полости тела. У 40% рыб выявили носительство вторичных патогенов, идентичных микроорганизмам, изолированным от икры. Микрофлора поступающей в бассейны воды была представлена флавобактериями и псевдомонадами при невысоком ОМЧ – 120 КОЕ/мл. По результатам исследования рекомендовали обработку рыб соответствующими антибиотиками.

Таким образом, зафиксированы заражение икры от производителей комплексом условно-патогенных бактерий и последующая контаминация ими подращиваемых сеголеток кеты. Благодаря невысокой температуре воды у молоди лососей не произошло серьезной вспышки заболевания и гибели значительной части рыб. Однако при выпуске с ЛРЗ у ослабленной бактериозами молоди кеты может осложниться процесс адаптации к условиям естественных водоемов, что, в конечном итоге, негативно повлияет на величину возврата половозрелых особей.

ГЛАВА 5. УСЛОВИЯ И ФАКТОРЫ, СПОСОБСТВУЮЩИЕ ВОЗНИКНОВЕНИЮ И РАЗВИТИЮ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛОСОСЕЙ НА ЛРЗ

Вода является резервуаром инфекции и инвазии рыб в естественных водоемах, а также одним из путей проникновения болезнетворных агентов на заводы.

Микрофлора воды. Состав микрофлоры воды, поступающей на все ЛРЗ Камчатки, был в основном сходным (табл. 4).

Таблица 4

Общее микробное число (ОМЧ) и бактериальный состав воды, поступающей на ЛРЗ

ЛРЗ, вид рыбы	ОМЧ воды, КОЕ/мл					Вид бактерий
	2000 г.	2001 г.	2002 г.	2003 г.	2004 г.	
ПЛРЗ, кета	130	120	200	120	1360	<i>P. fluorescens</i> , <i>F. psychrophilum</i> , <i>Enterobacter</i> sp.
МЛРЗ, чавыча	320	540	5360	280	320	<i>F. psychrophilum</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>Enterobacter</i> sp., <i>P. alcaligenes</i> , <i>Flavobacterium</i> sp.
МЛРЗ, нерка	320	540	5360	280	380	<i>F. psychrophilum</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>P. luteola</i> , <i>Flavobacterium</i> sp.
ОЛРЗ, нерка	100	–	60	160	240	<i>P. fluorescens</i> , <i>Pasteurella</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp.
ОЛРЗ, кета	100	–	20	160	130	<i>P. fluorescens</i> , <i>Pasteurella</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp.
КЛРЗ, кета	1020	1016	280	180	360	<i>P. fluorescens</i> , <i>F. psychrophilum</i> , <i>Enterobacter</i> sp., <i>P. putida</i>
ВЛРЗ, кета	170	380	1129	160	160	<i>P. fluorescens</i> , <i>F. psychrophilum</i> , <i>P. putida</i>
ВЛРЗ, кижуч	170	380	1129	40	160	<i>P. fluorescens</i> , <i>F. psychrophilum</i>

Комплекс псевдомонад и флавобактерий в воде отмечали на всех заводах, кроме ОЛРЗ. Также выделяли бактерии видов *Enterobacter* sp., *P. alcaligenes*, *P. luteola*, *Flavobacterium* sp., *Pasteurella* sp. Наиболее широкий спектр микроорганизмов выявили в воде, поступающей на МЛРЗ и КЛРЗ.

В большинстве случаев ОМЧ воды на заводах соответствовало норме. Факты его превышения регистрировали при авариях водозабора, а также подтоплении водосточников при таянии снега. Так как водоснабжение на всех заводах самотечное ключевое и/или русловое и обеззараживания поступающей воды не предусмотрено, то патогены свободно проникали на заводы с водой из базовых водоемов.

При искусственном воспроизводстве тихоокеанских лососей с использованием принудительного водоснабжения вода, поступающая в бассейны из открытых источников, должна подвергаться специальной обработке, чтобы не допустить проникновения на заводы инфекционных или инвазионных возбудителей. Обычно используется и считается безвредной для рыб комбинация гравийно-песчаной фильтрации с последующей обработкой воды ультрафиолетовым облучением (Piper et al., 1982). На Камчатке обеззараживание воды, поступающей на лососевые рыболовные заводы, и воды, сбрасываемой из них, при проектировании не было предусмотрено. На многих ЛРЗ до сих пор имеются только гравийно-песчаные фильтры.

Бактерии родов *Pseudomonas*, *Flavobacterium* и *Aeromonas* являются доминирующей флорой среди условно-патогенных микроорганизмов, присутствующих в воде. Эти микроорганизмы представляют собой один из компонентов ее микробиоценоза и встречаются во всех водоемах, особенно загрязненных органическими веществами. Отсутствие надежной фильтрации воды и последующей ее стерилизации перед поступлением в бассейны повышает риск занесения на заводы опасных патогенов из базовых водоемов. Ранее у личинок чавычи диагностировали холодноводную болезнь, вызванную флавобактериями (миксобактериями) (Pugaeva, Luniova, 1990), псевдомоноз у мальков кеты, чавычи, кижуча, нерки, возбудителями которого явились *P. fluorescens* и *P. putida* (Вялова, Шкурина, 1995). Нами выявлены бактериальная инфекция у нерки на МЛРЗ и жаберное заболевание у сеголеток кеты и кижуча на ВЛРЗ, вызванные смешанной микрофлорой. Следовательно, большая часть болезней лососей в аквакультуре ассоциирована с поступающей водой.

В 2007 г. после наших рекомендаций на МЛРЗ установили ультрафиолетовые облучатели поступающей воды. Было проведено ее бактериологическое исследование до бактерицидной обработки и после нее. Общее микробное число воды до облучения составило 2400 КОЕ/мл, с преобладанием в ней *P. fluorescens*. Вода после обработки ультрафиолетом была стерильной. В связи с этим нами рекомендовано оборудовать бактерицидными облучателями все ЛРЗ.

Качество кормов. С 2001 г. у молоди лососей на всех ЛРЗ отмечали признаки алиментарного токсикоза, которые проявлялись у рыб изменением цвета и консистенции внутренних органов, расширением кровеносных сосудов печени и наличием сгустков крови в полости тела. С этого же времени на заводах начали применять корма производства Дании. В 2001 г. впервые из печени и почек рыб на всех заводах были изолированы бактерии *Staphylococcus* sp. и дрожжеподобные грибы (рис. 4).

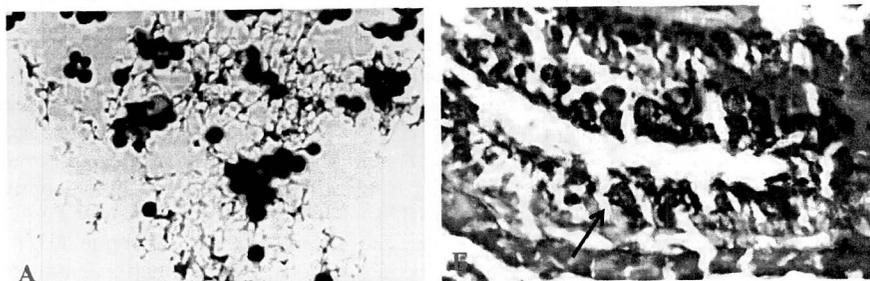


Рис. 4. Дрожжеподобные грибы (†) у молоди лососей на ЛРЗ Камчатки: А – в отпечатке почки ($\times 1000$, по Граму.); Б – в цилиндрическом эпителии почечного канальца ($\times 1000$, ШИК-световой зеленый)

Обсемененность кормов микроорганизмами варьировала от 40 до 7720 КОЕ/г и иногда превышала допустимую норму (1000 КОЕ/г) в 7,7 раз. Клетки дрожжеподобного гриба отмечали в отпечатках печени и почки у кижуча на ПЛРЗ, нерки и чавычи на МЛРЗ и печени кеты на КЛРЗ. Некоторые виды дрожжеподобных грибов так же, как и бактерии рода *Staphylococcus*, способны к образованию токсинов. Попадание их в организм рыб вызывает алиментарный токсикоз. Гистологическими методами были подтверждены патогенные свойства грибов, проявившиеся в тяжелом поражении тканей пищеварительного тракта и почек рыб. Это указывает на неудовлетворительное состояние здоровья сеголеток на ЛРЗ и признаки, характерные для алиментарного токсикоза, которые особенно явно проявились на ранних этапах кормления (Устименко и др., 2003; Гаврюсева, 2006).

Производители лососей – носители патогенной микрофлоры. Псевдомонады, аэромонады и флавобактерии свободно передаются горизонтально между рыбами через воду и могут инфицировать хозяина, который был ослаблен стрессовыми условиями окружающей среды или физиологическим состоянием (нерест у лососей). Поскольку перед отбором половых продуктов производители лососей на ЛРЗ Камчатки некоторое время «созревают» в садках при высокой плотности, повышается риск заражения их бактериальными патогенами.

Установлено, что некоторые виды бактерий могут передаваться от родителей потомству через инфицированное внутреннее содержимое икринки – так называемая вертикальная передача – и выживать даже после ее дезинфекции (Kumagai et al., 2000). Вертикальная трансмиссия зарегистрирована у особо опасного патогена *R. salmoninarum*, вызывающего бактериальную почечную болезнь (Evelyn et al., 1984). Есть данные об изоляции микроорганизмов *F. psychrophilum* из внутреннего содержимого оплодотворенной икринки (Ekman et al., 2003), а также из внутренних органов и половых продуктов рыб-производителей (Brown et al., 1997). Поэтому очень важно проведение бактериологического обследования производителей перед закладкой икры на инкубацию.

У производителей лососей, отобранных для воспроизводства на ЛРЗ, зарегистрированы случаи выделения опасного патогена лососевых рыб, возбудителя фурункулеза – *A. salmonicida* и других условно-патогенных для рыб микроорганизмов. В связи с высокой степенью (до 40%) инфицирования производителей лососей вероятно заражение половых продуктов и при недостаточно эффективной обработке последующая контаминация икры, закладываемой в инкубаторы. Так, в 2000 г. на ПЛРЗ произошло заражение икры кеты бактериями, что привело к ее повышенному отходу, а позже к контаминации патогенами личинок и мальков. При инфицировании молоди лососей на заводе возбудителем фурункулеза *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* возможна гибель всех особей. В связи с этим необходима эффективная антибактериальная обработка икры перед закладкой ее в инкубаторы.

ГЛАВА 6. ПРИМЕНЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ И ПРОБИОТИКА «СУБ-ПРО» ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У МОЛОДИ ЛОСОСЕЙ НА ЛРЗ КАМЧАТКИ

В настоящее время для лечения бактериозов у тихоокеанских лососей на ЛРЗ Камчатки используют антибактериальные препараты. Эффективность обработок зависит от правильного выбора препарата, что обеспечивается своевременной диагностикой и определением чувствительности выделенных бактерий к антибиотикам.

Чувствительность бактерий к антибиотикам. Была определена чувствительность к антибиотикам бактерий *P. fluorescens*, *F. psychrophilum* и *A. hydrophila*, наиболее часто встречаемых у молоди рыб на ЛРЗ Камчатки. Подавляющее большинство псевдомонад чувствительны к канамицину и гентамицину. При этом все штаммы *P. fluorescens* на всех заводах Камчатки были устойчивы к эритромицину. У псевдомонад, изолированных от молоди рыб на КЛРЗ и ВЛРЗ, выявили устойчивость к левомицетину. На других заводах часть штаммов этих бактерий проявили чувствительность к данному препарату, но их количество не превышало 50%. Больше всего псевдомонад, устойчивых к протестированным антибиотикам, были изолированы от рыб на ОЛРЗ и ВЛРЗ. Наибольшую устойчивость псевдомонад выявили к стрептомицину и тетрациклину. Вероятно, это является следствием частого применения указанных препаратов на заводах в профилактических и лечебных целях. Повышение устойчивости бактериальных патогенов к антибиотикам отмечают во многих странах, а псевдомонады, в том числе *P. fluorescens*, считаются бактериальной группой с высокой встречаемостью стойких к антибиотикам штаммов.

Подавляющее большинство изолированных штаммов бактерий *F. psychrophilum* были чувствительны к эритромицину и тетрациклину – 83,3 и 80% соответственно. Рост половины изолятов подавляла оксолиновая кислота. Более слабую чувствительность отмечали в отношении стрептомицина и гентамицина. Все выделенные штаммы *F. psychrophilum* были устойчивы к канамицину. Устойчивость к антибиотикам бактерий *F. psychrophilum* в настоящее время является серьезной проблемой. Способность возбудителя холодноводной болезни образовывать оболочку, устойчивую к антибиотикам, вероятно, приводит к быстрому развитию резистентности к лечебным препаратам, а также к рецидивирующим инфекциям (Sundell, Wiklund, 2011).

Все штаммы подвижных аэромонад *A. hydrophila* были наиболее чувствительны к левомицетину и фурадонину. Большинство изолятов *A. hydrophila* проявили устойчивость к эритромицину. В отношении остальных антибиотиков чувствительность проявляли около половины изолированных штаммов.

Антибактериальные препараты широко используются для лечения бактериальных болезней рыб, и все большее беспокойство вызывает растущая устойчивость к ним микроорганизмов, поэтому становится трудно предотвратить развитие болезней, которые может спровоцировать стресс, вызванный сортировкой или транспортировкой рыб.

Эксперимент по исследованию эффективности пробиотика «СУБ-ПРО» для лососей. Пробиотики предназначены для профилактики и лечения заболеваний бактериальной этиологии, нормализации кишечной микрофлоры при дисбактериозах различной природы.

Проведенный эксперимент по изучению эффективности применения пробиотика «СУБ-ПРО» при добавлении его в корм сеголеткам кеты на КЛРЗ показал, что качественный состав микрофлоры кишечника рыб из опытного и контрольного бассейнов в течение всего периода исследований не отличался (рис. 5А). Он был представлен в основном бактериями рода *Pseudomonas*, в том числе *P. fluorescens*.

Различия по количеству бактерий, изолированных из кишечника рыб, в опытном и контрольном бассейнах также были не достоверны ($p > 0,05$). Сравнение полученных рыбоводно-биологических показателей показало, что введение в корм сеголеток кеты пробиотика «СУБ-ПРО» существенно не повлияло на уровень выживаемости и на изменение массы тела рыб ($p > 0,05$) (рис. 5Б, В).

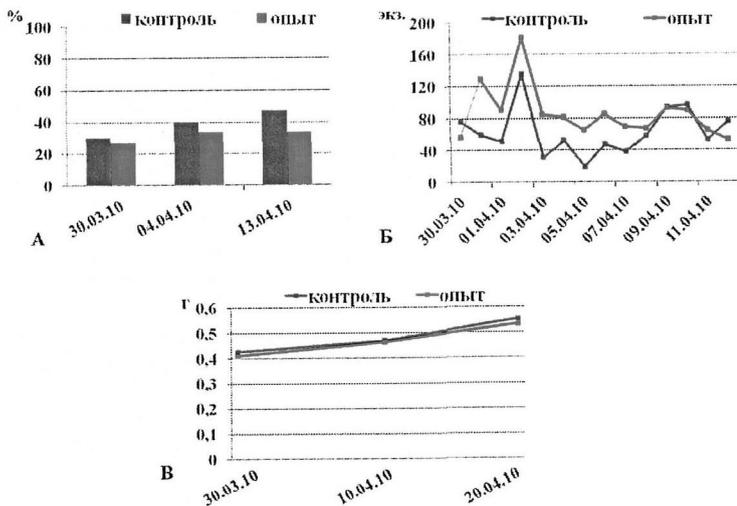


Рис. 5. Встречаемость *P. fluorescens* в кишечнике (А), ежедневный отход (Б) и изменение средней массы тела рыб (В) в эксперименте

Исследовали способность микроорганизмов *Bacillus subtilis*, содержащихся в препарате «СУБ-ПРО», к росту на питательной среде при разных температурах. Через 1–7 суток инкубации при температуре 3 и 7°C роста микрофлоры на среде TSA не отмечали. После перемещения чашек с посевами в термостат с температурой 21°C через сутки регистрировали обильный рост колоний микроорганизмов. Известно, что для бактерий *B. subtilis* оптимальная температура роста составляет 37°C. Поэтому температура воды 3,7–4,0°C, при которой проводили опыт, для этого вида бактерий не является благоприятной. По данным В.В. Панасенко (2006), микроорганизмы из пробиотических препаратов «Субалин» и «Ветом», являющихся аналогами «СУБ-ПРО», также не растут при низкой температуре (8°C).

Таким образом, по результатам проведённого опыта не выявлено существенного влияния пробиотика «СУБ-ПРО» на количественный и качественный состав микрофлоры кишечника, уровень выживаемости и изменение массы тела сеголетков кеты на КЛРЗ, что объясняется подавлением активности микроорганизмов *B. subtilis* низкой температурой воды в бассейнах лососевого рыбоводного завода. Следовательно, применение этого препарата на холодноводных ЛРЗ Камчатки нецелесообразно.

ВЫВОДЫ

1. Для тихоокеанских лососей на ЛРЗ Камчатки основное эпизоотическое значение имели условно-патогенные бактерии родов *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*. От молоди лососей, а также производителей чавычи, нерки и кижуча чаще других бактерий изолировали псевдомонады. У производителей кеты основной компонент микрофлоры составляли подвижные аэромонады.

2. У производителей нерки и кеты в бассейнах пр. Паратунка и Большая и у молоди кеты на ЛРЗ «Озерки» и «Кеткино» выявили опасный патоген, возбу-

тель фурункулеза *A. salmonicida*. Чаще его изолировали от рыб на ОЛРЗ, следовательно, вероятность вспышки фурункулеза у молоди лососей на этом заводе выше, чем на других.

3. У нерки на ОЛРЗ диагностировали острую форму псевдомоноза. У кижуча на ВЛРЗ и нерки на МЛРЗ регистрировали бактериальные инфекции, вызванные смешанной микрофлорой, среди которой преобладали псевдомонады *P. fluorescens* и флавобактерии *F. psychrophilum*.

4. Бактерии проникают на рыбоводные заводы в основном из естественных водоемов с поступающей водой. Обсемененность кормов стафилококками и дрожжеподобными грибами вызывает алиментарный токсикоз у молоди рыб, признаки которого особенно проявляются на ранних этапах ее кормления.

5. Большинство штаммов псевдомонад *P. fluorescens*, изолированных от рыб, были чувствительны к канамицину, гентамицину и устойчивы к эритромицину, а изоляты *F. psychrophilum* – чувствительны к эритромицину, тетрациклину и устойчивы к канамицину.

6. Существенного влияния пробиотика «СУБ-ПРО» на состав микрофлоры кишечника, уровень выживаемости и изменение массы тела сеголеток кеты экспериментально не выявлено. Его применение при выращивании молоди лососей при низких температурах нецелесообразно.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Провести ревизию систем водоснабжения на всех заводах и осуществить замену устаревших устройств, а также оборудовать все ЛРЗ ультрафиолетовыми установками для обеззараживания поступающей воды. Установить на заводах устройства очистки, предусматривающие ликвидацию патогенов и химиопрепаратов в заводских сточных водах, чтобы предупредить их вынос из ЛРЗ в водоемы.

2. Для предотвращения передачи бактериальных инфекций от производителей к молоди обеспечить эффективную антибактериальную обработку икры перед закладкой в инкубаторы.

3. Исключить бесконтрольное применение антибиотиков. Выбор антибактериальных препаратов проводить только после проверки чувствительности к ним выделенных патогенов.

4. Перед закупкой пробиотических препаратов проводить их экспериментальное тестирование на конкретном виде молоди лососей и при соответствующей температуре выращивания непосредственно на ЛРЗ, что позволит оценить эффективность препарата и избежать возможных экономических потерь.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в научных журналах, рекомендованных ВАК:

1. Устименко Е.А. Признаки бактериальной жаберной болезни у молоди кижуча на Вилюйском рыбозаводе (Камчатка) // Вопросы рыболовства. – 2006. – Т. 7. – № 3(27). – С. 436–445.

2. Устименко Е.А., Сергеев 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.

Публикации в других изданиях:

1. Устименко Е.А., Сергеев Н.В. Диагностика и профилактика бактериальных заболеваний мальков тихоокеанских лососей на рыбозаводных заводах Камчатки // Тез. докл. науч.-практ. конф. «Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре». – М., 2000. – С. 121–122.

2. Пугаева В.П., Карманова И.В., Рудакова С.Л., Гаврюсева Т.В., Устименко Е.А., Сергеев Н.В., Линева Г.П. Данные бактериологических, вирусологических, паразитологических и гистологических исследований как показатели технического состояния рыбозаводных заводов Камчатки // Мат. всерос. совещ. «Искусственное воспроизводство и охрана ценных видов рыб». – М., 2001. – С. 125–136.

3. Устименко Е.А., Сергеев 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.

4. Карманова И.В., Пугаева В.П., Рудакова С.Л., Линева Г.П., Сергеев Н.В., Гаврюсева Т.В., Устименко Е.А. Пути проникновения патогенов молоди тихоокеанских лососей на рыбозаводные заводы Камчатки // Исслед. вод. биол. ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана: Сб. КамчатНИРО. – Петропавловск-Камчатский, 2002. – Вып. VI. – С. 303–307.

5. Устименко Е.А., Гаврюсева Т.В., Сергеев Н.В. Признаки алиментарного токсикоза у молоди тихоокеанских лососей на рыбозаводных заводах Камчатки // Матер. науч.-техн. конф. “Экологические и социально-экономические проблемы Камчатки”. – Петропавловск-Камчатский: КамчатГТУ, 2003. – С. 21–32.

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

7. Karmanova I.V., Rudakova S.L., Sergeenko N.V., Ustimenko E.A., Liniova G.P., Korneeva S.A., Gavriuseva T.V. Health of Pacific salmonids held under natural and artificial conditions of reproduction in Kamchatka // II Bilateral conference “Aquatic and marine animal health”. – Shepherdstown, West Virginia, USA, 2003. – P. 4.

8. Карманова И.В., Рудакова С.Л., Гаврюсева Т.В., Устименко Е.А., Сергеев Н.В., Линева Г.П., Корнеева С.А. Инфекционные и инвазионные возбудители болезней рыб в аквакультуре (Камчатка) // Сб. науч. трудов. Болезни рыб. Вып. 79. – М.: Компания “Спутник+”, 2004. – С. 100–106.

9. Сергеев Н.В., Гаврюсева Т.В., Устименко Е.А. Актиномицеты у лососевых рыб Камчатки // Мат. межд. науч.-практ. конф. «Стратегия развития аквакультуры в условиях XXI века». – Минск: Тонпик, 2004. – С. 347–350.

10. 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.). – Shepherdstown, USA, 2005. – P. 256–259.

11. Karmanova I.V., Rudakova S.L., Ustimenko E.A., Sergeenko N.V., Liniova G.P., Korneeva S.A., Gavriuseva T.V. Microorganisms and parasites associated with feral and hatchery-reared Pacific salmon in Kamchatka // Health and diseases of aquatic organisms: bilateral perspectives. In: R.C. Cipriano, I.S. Shchelkunov (Eds.). – Shepherdstown, USA, 2005. – P. 357.

12. 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. // Расширен. мат. Всерос. науч.-практ. конф.-семинара «Эпизоотический мониторинг в аквакультуре: состояние и перспективы». – М.: Россельхозакадемия, 2005. – С. 101–104.

13. Рудакова С.Л., Устименко Е.А., Гаврюсева Т.В., Сергеенко Н.В., Бочкова Е.В. Профилактика и контроль заболеваемости молоди на лососевых рыбоводных заводах Камчатки как одно из направлений повышения эффективности воспроизводства // Мат. межд. науч.-практ. семинара «Современные проблемы лососевых рыбоводных заводов Дальнего Востока». – Петропавловск-Камчатский, 2006. – С. 87–92.

14. Устименко Е.А. Бактериальные инфекции у молоди нерки на рыбоводных заводах Камчатки // Мат. межд. конф. «Современное состояние водных биоресурсов». – Новосибирск, 2008. – С. 402–404.

15. Устименко Е.А. Бактерии — возбудители заболеваний тихоокеанских лососей на рыбоводных заводах Камчатки // Мат. межд. конф. «Стратегия развития аквакультуры в современных условиях». – Минск, 2008. – С. 496–498.

16. Рудакова С.Л., Устименко Е.А., Гаврюсева Т.В., Бочкова Е.В. Эпизоотологические проблемы на лососевых рыбоводных заводах Камчатки и пути их решения // Мат. всерос. конф. с междунар. участием «Проблемы и перспективы использования водных биоресурсов Сибири в XXI веке». – Красноярск, 2009. – С. 131–136.

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

18. Рудакова С.Л., Бочкова Е.В., Маслов А.В., Устименко Е.А. Влияние патогенов на выживаемость икры и личинок нерки (*Oncorhynchus nerka*) в нерестовых буграх на нерестилищах в оз. Курильское (Камчатка) // Тез. докл. VIII межд. конф. по раннему онтогенезу рыб и пром. беспозвоночных. – Калининград: АтлантНИРО, 2010. – С. 88–90.

19. Устименко Е.А. Некоторые биотические факторы, влияющие на искусственное воспроизводство тихоокеанских лососей на Камчатке // Мат. межд. науч. конф. «Воспроизводство естественных популяций ценных видов рыб». – Санкт-Петербург, 2010. – С. 218–219.

20. Устименко Е.А., Винник Н.Г. Применение пробиотика «СУБ-ПРО» при выращивании молоди кеты на лососевом рыбоводном заводе (Камчатка) // Мат. III межд. конф. «Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов». – Борок, 2011. – С. 263–266.

Устименко Елена Александровна

**БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ У ТИХООКЕАНСКИХ ЛОСОСЕЙ
ПРИ ИСКУССТВЕННОМ ВОСПРОИЗВОДСТВЕ НА КАМЧАТКЕ**

*Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук*

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

Подписано в печать 24.04.2012 г.
Формат 60*84/16. Печать цифровая. Гарнитура Times New Roman
Авт. л. 1,69. Уч.-изд. л. 1,95. Усл. печ. л. 1,34
Тираж 100 экз. Заказ № 137

Издательство
Камчатского государственного технического университета

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