

УДК 597-12:576.85

## ПУТИ ПРОНИКНОВЕНИЯ ПАТОГЕНОВ МОЛОДИ ТИХООКЕАНСКИХ ЛОСОСЕЙ НА РЫБОВОДНЫЕ ЗАВОДЫ КАМЧАТКИ

И. В. Карманова, В. П. Пугаева, С. Л. Рудакова, Г. П. Линева, Н. В. Сергеенко,  
Т. В. Гаврюсева, Е. А. Устименко



Проанализированы результаты бактериологических, вирусологических, паразитологических и гистологических исследований искусственновыращиваемых сеголеток кеты, нерки, чавычи и кижуча на пяти лососевых рыбоводных заводах Камчатки. Выявлены возможные пути заражения рыб болезнетворными агентами в 1989–2001 гг.

Условия искусственного воспроизводства тихоокеанских лососей по многим показателям резко отличаются от естественных. По мнению Намумовой и Ройтмана (1989), стабильное поддержание температур в процессе инкубации, постоянный газообмен, проточная вода, отсутствие в ней вредных примесей, использование доброкачественных кормов, исключение воздействия значительного количества возбудителей заболеваний — все это способствует выращиванию здоровой молоди рыб. В то же время возможен занос в искусственные бассейны отдельных видов патогенных и условно-патогенных бактерий, вирусов и паразитов. В таких случаях их воздействие может проявиться на различных технологических этапах разведения лососей. При этом борьба с ними значительно усложнит процесс воспроизводства рыб.

Цель исследований — диагностика возбудителей заболеваний искусственновыращиваемой молоди тихоокеанских лососей и выявление условий, при которых болезнетворные агенты могут проникать на лососевые рыбоводные заводы.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В настоящем сообщении приводятся данные комплексных бактериологических, вирусологических, паразитологических, гистологических и гистохимических исследований искусственно-разводимых тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus*: кеты (*O. keta*), нерки (*O. nerka*), чавычи (*O. tshawytscha*) и кижуча (*O. kisutch*). Эти исследования проводили на пяти заводах: Паратунском, Кеткино, Озерки, Малкинском, Виллойском, а также на Паратунской экспериментальной геотермальной базе КамчатНИРО (ПЭГБ), расположенной на берегу р. Хайковая — притоке р. Паратунка. Дополнительно проводили бактериологическое обследование воды, поступающей в бассейны, и кормов.

Закладку в инкубаторы оплодотворенной икры тихоокеанских лососей (кеты, нерки, чавычи и кижуча) на заводах и ПЭГБ производят с начала июля до конца октября в зависимости от вида рыб. Лабораторный контроль за состояни-

ем здоровья инкубируемой икры и выращиваемой молоди ведется с января по июнь каждого года: на Малкинском ЛРЗ и ПЭГБ с 1989, а на остальных — с 1996 г.

Рыбу с заводов выпускают в базовые водоемы: с первого и ПЭГБ — в бассейн р. Паратунка, со второго — в бассейн р. Авача, с пятого — в оз. Большой Виллой (юго-восток Камчатки), с третьего и четвертого — в бассейн р. Большая-Быстрая (юго-запад Камчатки). На Малкинском ЛРЗ водоснабжение речное с подогревом термальной водой, на остальных — самотечное, русловое или подрусловое из рек, ручьев и ключей.

Исследовали мальков после рассасывания желточного мешка в начале самостоятельного питания и за 10–14 дней перед выпуском в открытые водоемы. Для вирусологических, бактериологических и паразитологических исследований брали случайные выборки по 60 экз., для гистологических исследований — по 10–15 экз. рыб каждого вида. Результаты исследований заводской молоди лососей сопоставляли с таковыми дикой молоди и половозрелых лососевых рыб из естественных водоемов. Использовали отечественные (Лабораторный практикум ..., 1983) и зарубежные (Blue book ..., 1994) методики. Исследования воды осуществляли согласно рекомендациям Минздрава России (Методы ..., 1997).

Проводили полное паразитологическое вскрытие. Жгутиконосцев окрашивали железным гематоксилином; ресничных инфузорий — нитратом серебра. Делали бактериологические посеы из почек на питательные среды для выделения широкого круга микроорганизмов. Мазки крови окрашивали по Май-Грюнвальда-Гимза. Для гистологических исследований ткани фиксировали в 10%-ом нейтральном буферном растворе формалина. Препараты окрашивали гематоксилин-эозином и по Гимза.

Всего обследовано 17029 экз. тихоокеанских лососей: сеголеток в искусственных условиях — 10743, сеголеток, двух- и трехлеток в водоемах — 3920, взрослых рыб — 2366, производителей на заводах — 101 и 381 экз. других видов рыб.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У сеголеток лососей на ЛРЗ регулярно выявляли асимптоматическое носительство вторичных бактериальных патогенов: *Pseudomonas fluorescens*, *Ps. putida*, *Cytophaga psychrophila*, являющихся обычными представителями водной микрофлоры и вызывающих вспышки бактериозов в условиях стресса. Так, в 1990 г. у личинок чавычи на Малкинском ЛРЗ диагностировали холодноводную болезнь, вызванную миксобактериями. Сотрудники СахНИРО, ранее работавшие на Малкинском ЛРЗ, выявили псевдомоноз у мальков кеты, чавычи, кижуча, возбудителями которого явились *Ps. fluorescens* и *Ps. putida* (Вялова, Шкурина, 1995).

У половозрелых лососевых рыб из указанных водоемов, кроме вышеперечисленных патогенов, выявляли *Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *Flavobacterium indologenes*, *F. multivorum*, *Vibrio ordalii* и *Streptomyces sporichthya*. В 1990 г. зафиксирован случай выделения облигатного патогена лососевых рыб — *A. salmonicida var salmonicida* у половозрелого кижуча из р. Большой-Быстрой.

При обследовании производителей изолировали 23 штамма вторичных патогенов рыб, из которых 8 — *A. hydrophila* и 11 — *Ps. fluorescens*. В связи с высокой степенью инфицирования рыб (22,8%), существовала большая вероятность заражения половых продуктов. При этом требуется эффективная антибактериальная обработка икры, закладываемой в инкубаторы. Однако отсутствие таковой на Паратунском ЛРЗ в 2000 г. привело к поражению икры кеты бактериями *A. hydrophila*, *Ps. fluorescens*, *C. psychrophila*. Был отмечен ее повышенный отход — 17%. Позже те же бактерии были выявлены у 40% личинок и мальков этого вида рыб.

Анализ микрофлоры воды, поступающей на заводы, показал ее загрязнение теми же тремя патогенами, которые указаны для сеголеток (*Ps. fluorescens*, *Ps. putida*, *C. psychrophila*), в количестве до 34,7; 24,3; 45,5% соответственно.

Выделение энтеробактерий *Shigella sp.* (11,7%) из кормов и от мальков кеты на Паратунском ЛРЗ, при отсутствии таковых в воде и у производителей, свидетельствует о проникновении их с кормами фирмы «Aller Aqua» крупки SPG № 0 и 1. Кроме этих видов бактерий, как у рыб, так и из кормов, на большинстве заводов выделяли *Staphylococcus sp.* Содержание стафилококков в отдельных пробах кормов достигало 7720 КОЕ/г, что в 7,72 раз выше допустимого. Заражение рыб этими кокками незначительно (3,33%); в то же время известно, что многие виды стафилококков продуцируют внеклеточные токсины (Holt et al., 1994). В связи с этим высока вероятность проникновения токсинов в желудочно-кишечный тракт рыб.

В течение трех лет (1998–2000 гг.) при исследовании мазков крови заводских сеголеток тихоокеанских лососей выявлены крупные единичные ацидофильные и мелкие множественные базофильные включения в цитоплазме эритроцитов. Первые вызывают вирусный некроз этих клеток (Viral erythrocytic necrosis—VEN) и обнаружены у сеголеток кеты. Они округлой формы, диаметром 1–3 мкм, розового цвета при окрашивании по Май-Грюнвальда-Гимза. Вторые вызывают синдром эритроцитарных телец-включений (Erythrocytic inclusion body syndrom—EIBS) у сеголеток нерки и чавычи. Это — мелкие множественные включения, диаметром 0,5–1,5 мкм, дополненные единичными крупными, диаметром 2–3 мкм. Цвет включений варьировал от темно-синего до светло-голубого при окрашивании тем же методом.

Встречаемость сеголеток кеты с VEN-подобными включениями колебалась от 0 до 100% в зависимости от года исследования и обследуемого завода. Интенсивность поражения эритроцитов изменялась от легкой (< 5 пораженных эритроцитов в 30 полях зрения) до тяжелой (> 1 пораженного эритроцита в каждом из 30 полей зрения) при увеличении  $\times 1000$ . Встречаемость сеголеток чавычи и нерки, пораженных EIBS-подобными включениями, изменялась в той же зависимости от 0 до 86,6%. Интенсивность поражения эритроцитов при этом всегда была не ниже средней (5–30 пораженных эритроцитов в 30 полях зрения микроскопа).

В 2001 г. на отдельных заводах, при анализе мазков крови рыб, отмечали значительную долю незрелых эритроцитов (до 35%). Это свидетельствует об активизации эритропоэза, что на данной стадии развития сеголеток не является нормой и указывает на патологические изменения в организме рыб. В лейкоцитарной формуле у 30–70% рыб увеличена доля нейтрофилов до 25,5% и моноцитов до 20–30%, что характерно для первой и второй стадий токсикоза. Анализ общей картины крови показал в 20–100 случаях анизоцитоз и пойкилоцитоз эритроцитов, много разрушающихся красных кровяных телец, образующих впоследствии ядерные тени. Подобные патологические изменения в общей эритроцитарной картине крови также свидетельствуют о патологических изменениях в организме рыб. К моменту выпуска сеголеток в открытые водоемы все показатели крови значительно улучшились.

При паразитологических исследованиях сеголеток лососей на заводах были выявлены одноклеточные паразиты, поражающие (с экстенсивностью от 3,3 до 50% и, как правило, с низкой интенсивностью заражения) либо кожу, либо жабры: *Ichthyobodo necator*, *Chilodonella piscicola*, *Apiosoma conicum*, *Trichodina truttae*.

Только однажды (в 1999 г.) у сеголеток нерки на ЛРЗ Озерки были выявлены все признаки заболевания, называемого ихтиободоз (костиоз). При стопроцентной экстенсивности заражения на коже и жабрах рыб наблюдали от единичных до 50 экз. *I. necator* в каждом из 25 полей зрения микроскопа при увеличении  $\times 100$ .

В естественных водоемах вышеперечисленные паразиты часто встречались у дикой молоди тихоокеанских лососей: сеголеток кеты, горбуши, нерки и кижуча; двух- и трехлеток нерки, чавычи и кижуча; у трех- и четырехлеток гольца; у молоди и взрослых трех- и девятиглай колюшек. Первые три вида простейших также были отмечены у молоди и взрослых особей серебряного карася.

В 1996 г. в условиях эксперимента на ПЭГБ впервые *I. necator* и *Ch. piscicola* были обнаружены на поверхности икры горбуши, выращиваемой в акватроне (Тип АР-20А-750) с замкнутым циклом водоснабжения и регулируемой температурой воды. Кроме них, также встречены *Entamoeba sp.*, *Tetrahymena pyriformis*, *Vorticella sp.* и гифы, зооспорангии и оогонии грибов рода *Saprolegnia*. При этом экстенсивность заражения составила 100%, интенсивность — от 1 до 15 экз. в каждом из 25 полей зрения микроскопа при увеличении  $\times 100$ . С подобной экстенсивностью, но низкой интенсивностью заражения все эти представители встречались на поверхности развивающейся икры горбуши, взятой в этом же году из нерестовых бугров в Карымайском ключе (приток р. Большая-Быстрая). Тот же состав паразитов обнаружен в 2000 г. на поверхности инкубируемой икры кеты на Паратунском ЛРЗ, которую для набухания содержали в воде р. Паратунки. Следует отметить наличие этих представителей паразитофауны и грибов в соскобах со стенок заводских бассейнов, причем в значительном количестве.

Наличие одних и тех же видов простейших паразитов и грибов, какие выявлены на поверхности развивающейся икры горбуши из нерестовых бугров в естественном водоеме, дает право предполагать, что они занесены в акватрон на ПЭГБ из ключа и на Паратунский ЛРЗ из реки, где происходило набухание оплодотворенной икры. Вероятно, подобная ситуация может возникнуть на любых лососевых рыболовных заводах в тех случаях, когда оплодотворение икры и ее набухание производят в каких-либо водоемах, откуда впоследствии икру без специальной обработки будут привозить для инкубации.

Гистологическими и гистохимическими методами исследовали пробы кожи, жабр, печени и желчного пузыря, почки, предсердия и желудочка сердца, селезенки, пищевода, желудка, кишечника, плавательного пузыря, головного

мозга, хрящевой ткани и скелетной мускулатуры сеголеток тихоокеанских лососей на пяти ЛРЗ.

В 2000 г. выявили гифы и конидии гриба, предположительно, рода *Phoma*, которые вызывали гиперплазию чешуйчатого эпителия и слипание вторичных жаберных лепестков у сеголеток лососей на всех ЛРЗ. В результате воздействия гриба происходило нарушение жаберного и кожного дыхания, приводившее в дальнейшем к интерстициальному отеку и вакуолизации клеток паренхиматозных органов (почки, печени) и некрозу мускулатуры.

Споры представителя простейших из рода *Dermocystidium*, неопределенного таксономического положения, обнаружили в соединительной ткани верхней челюсти у кеты на Виллюйском ЛРЗ; в губчатом мышечном слое дермы головы у чавычи и соединительном слое обонятельной ткани носового канала и верхней губы у чавычи и нерки на Малкинском ЛРЗ.

На всех заводах у кеты, нерки и чавычи отмечали инвазию микроспоридией *Pleistophora sp.* желчного пузыря, печени, экзокринной части поджелудочной ткани, циркулярного мышечного слоя желудка и кишечника, соединительно-тканной прослойки миотомов скелетной мускулатуры, просвета почечных канальцев. Выявили некроз, плазмоллиз цилиндрического эпителия и некроз миоцитов желчного пузыря, плазмо- и цитоллиз гепатоцитов (кета — Паратунский, Кеткино, Виллюйский, нерка, чавыча — Малкинский ЛРЗ).

Обнаружили конидии гриба *Exophiala sp.* (2001 г.) между миоцитами губчатого слоя желудочка сердца у нерки, в соединительной ткани плавательного пузыря у чавычи — на Малкинском ЛРЗ; у кеты — в печени и очаге некроза молекулярного слоя продолговатого мозга на ЛРЗ Кеткино и в очаге некроза молекулярного слоя мозжечка на Виллюйском ЛРЗ.

У кеты на ЛРЗ Кеткино, Озерках и Паратунском в просвете почечных канальцев, желчного пузыря, пилорического и кардиального отделов желудка выявили таллусы и «покоящиеся» споры гриба, предположительно *Ichthyophonus hoferi*. Цитоплазма спор давала интенсивную ШИК-реакцию. При этом обнаружен некроз цилиндрического эпителия слизистого и подслизистого слоев пилорического отдела желудка; некроз, плазмоллиз гепатоцитов; гиперплазия чешуйчатого эпителия, слипание вторичных жаберных лепестков; интерстициальный отек, множественные скопления меланомакрофагов в гемопозитической части почки, гранулемы.

Как указано выше, водоснабжение на всех заводах самотечное ключевое, ручьевого и/или русловое и подрусловое. Обеззараживание поступающей в бассейны воды ни на одном из них технически не предусмотрено. В связи с этим на заво-

ды беспрепятственно проникают не только бактериальные и вирусные патогены, но и многие виды одноклеточных паразитов, а также грибы.

Вирусоподобные частицы VEN и EIBS вызывают мягко протекающие заболевания и, в основном, снижают адаптационные возможности и резистентность организма рыб, в результате чего она может погибать от различных стрессовых воздействий или вторичных инфекций. Известно, что заражение рыб VEN-подобными включениями может происходить через воду от рыбы к рыбе и через зараженную икру (Rohovec, Amandi, 1981), EIBS-подобными включениями — только первым способом (Piacentini, 1989), когда инфицированные производители выделяют большое количество вирусов в окружающую среду.

Проникновение простейших паразитов в искусственные бассейны происходит несколькими путями: с водой при принудительном водоснабжении; со слизью производителей, при отсутствии их предварительной антипаразитарной обработки перед оплодотворением; с переносом паразитов на поверхности оплодотворенной икры при выдерживании ее для набухания в естественном водоеме перед транспортировкой к месту инкубации (Карманова, 1998).

Сапрофитные грибы рода *Phoma* широко распространены в пресной воде и почве, на растениях, в сточных водах (Bruno, Poppe, 1996; Lehman, 1999). Жизненный цикл, источник и способ передачи *Exophiala sp.* и *Dermocystidium sp.* изучены недостаточно хорошо, по-видимому, они также передаются с водой (Allen et al., 1968; Нейш, Хьюз, 1984).

Передача рыбам микроспоридии *Pleistophora sp.* происходит с водой (Canning et al., 1986). Кроме того, можно предположить, что заражение этим паразитом заводских сеголеток лососей возможно и псевдотрансовариальным путем, то есть в период отбора половых продуктов от зараженной самки. Так как эта микроспоридия встречается не только у больных (язвы, опухоли), но и у рыб без внешних признаков патологии (Карманова, 2000), вполне вероятно, что ее споры могут оставаться инвазионными и на поверхности икры. Наличие зрелых спор с выпущенной полярной трубкой (обнаруженных в соскобах с поверхности икры горбуши, выловленной в р. Большая-Быстрая) было отмечено в 1996 г.

В распространении *Mухоболus arcticus* у рыб определенную роль играет наличие возбудителя в естественных водоемах (Пугачев, Хохлов, 1979). В камчатских реках и озерах эта микроспоридия встречается у сеголеток, двух- и трехлеток нерки, чавычи и кижуча, а возвращают ее туда взрослые рыбы этих же видов в ходе анадромной миграции (Карманова, 1998). Концентрация спор в водоемах происходит после гибели рыб на нерестилищах.

Подача воды на заводы осуществляется из разных источников, но все заводы в 2000 г. использовали корма американского производства Biodiet Starter № 2 и № 3, а в 2001 г. датской фирмы «Aller Aqua» № 0–5, поэтому, возможно, заражение заводских рыб некоторыми бактериями и грибами могло происходить в результате потребления рыбами обсемененных кормов. Выявленные гематологические и гистопатологические изменения указывали на неудовлетворительное состояние здоровья сеголеток на ЛРЗ и признаки, характерные для алиментарного токсикоза, который наблюдался у них на ранних этапах питания. После проведения соответствующих антибактериальных и антипаразитарных обработок состояние здоровья молоди перед выпуском на всех заводах было удовлетворительным.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных комплексных исследований установлено, что бактериальные, вирусные, паразитарные и микозные возбудители молоди тихоокеанских лососей способны проникать на рыболовные заводы Камчатки с водой, кормами и от производителей.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вялова Г.П., Шкурина З.К. 1995. Псевдомоноз молоди лососевых на Малкинском рыболовном заводе Камчатки // Проблемы товарного выращивания лососевых рыб. Сб. докл. Всерос. совещ. 1–4 августа. Мурманск: Изд-во ПИНРО. С. 79–84.
- Карманова И.В. 1998. Паразиты тихоокеанских лососей в эпизоотической обстановке паразитозов в бассейне реки Паратунки (Камчатка) // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: Ин-т паразитологии. РАН. 23 с.
- Карманова И.В. 2000. Микроспоридия *Pleistophora sp.* у половозрелой горбуши в Карагинском заливе // Исследования биологии и динамики численности промысловых рыб Камчатского шельфа. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО. С. 170–174.
- Лабораторный практикум по болезням рыб. 1983. Под ред. В.А. Мусселиус // М.: Легк. и пищ. пром-сть. 296 с.
- Методы санитарно-микробиологического анализа питьевой воды. 1997. МУК 4.2.671-97. М.: Минздрав России. 27 с.
- Наумова И.В., Ройтман В.А. 1989. Паразитарные болезни разводимых рыб и их профилактика // Итоги науки и техники. ВИНТИ. Сер. Зоопаразитология. М. Т. 10. 212 с.
- Нейш Г.А., Хьюз Г.С. 1984. Микозы рыб. М.: Легк. и пищ. пром-сть. 96 с.

Пугачев О.Н., Хохлов П.П. 1979. Микроспоридии рода *Myxobolus* — паразиты головного и спинного мозга лососевых рыб // Систематика и экология рыб континентальных водоемов Дальнего Востока. Владивосток: Ин-т биол. моря ДВНЦ АН СССР. С. 137–139.

Allen, R.L., T.K. Meekin, G.B. Pauley et al. 1968. Mortality among chinook salmon associated with the fungus *Dermocystidium* // J. Fish. Res. Bd. Can. V. 25. P. 2467–2475.

Blue book. Suggested procedures for the detection and identification of certain finfish and shellfish pathogens. 1994. Ed. J.C. Thoesen // 4<sup>th</sup> ed. Version 1. Fish health. Sec. Am. Fish. Soc. 294 pp.

Bruno, D.W., and T.T. Poppe. 1996. A colour atlas of Salmonid diseases. Harcourt Brace and Co. Publ. 186 pp.

Canning, E.U., J. Lom., and I. Dykova. 1986. The Myxosporidia of Vertebrates // Academic press INC. (London) L.T.D. 289 pp.

Holt J., N. Krieg, P. Sneath et al. 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9 ed. Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland 21202, USA. 787pp.

Lehman, J., D. Mock, and W. Shcafer. 1999. Swim bladder infection of farmed atlantic salmon (*Salmo salar* L.) by a fungus // Bull. EAAP. V. 19. No 2. P. 83–84.

Piacentini, S.C., J.C. Rohovec, and J.L. Fryer. 1989. Epizootiology of erithrocitic inclusion body syndrome // J. Aquat. anim. health. No 1. P. 173–179.

Rohovec, J.S., and A. Amandi. 1981. Incidence of viral erythrocytic necrosis among hatchery reared Salmonids of Oregon // J. Fish pathol. Vol. 15 (3/4). No 3. P. 135–141.