

УДК 639.3.09:597.552.511 (265.53)

УСЛОВИЯ ОБИТАНИЯ ПРОМЫСЛОВЫХ ОБЪЕКТОВ

**ИХТИОПАТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ  
ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ КЕТЫ, ПОГИБШИХ В УСТЬЕ  
р. ВОСТОЧНАЯ (БАССЕЙН оз. ТУНАЙЧА,  
о. САХАЛИН) В СЕНТЯБРЕ 2019 г.**

**А. В. Полтева (a.polteva@sakhniro.ru),  
Е. В. Галанина**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Всероссийский научно-исследовательский институт  
рыбного хозяйства и океанографии» (ФГБНУ «ВНИРО»)

Сахалинский филиал («СахНИРО»)  
Россия, г. Южно-Сахалинск, 693023, ул. Комсомольская, 196

**Полтева А. В., Галанина Е. В.** Ихтиопатологическое исследование производителей кеты, погибших в устье р. Восточная (бассейн оз. Тунайча, о. Сахалин) в сентябре 2019 г. // Биология, состояние запасов и условия обитания гидробионтов в Сахалино-Курильском регионе и сопредельных акваториях : Труды «СахНИРО». – Южно-Сахалинск : «СахНИРО», 2021. – Т. 17. – С. 223–230.

Приведены результаты ихтиопатологического исследования нескольких экземпляров преднерестовой кеты, отловленных в устье р. Восточная, впадающей в оз. Тунайча, в период массовой гибели производителей на участках, прилегающих к устью реки. При отсутствии внешних признаков заболеваний и патологии со стороны внутренних органов выявлена контаминация почки у рыб бактериями из сем. Vibrionaceae.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** преднерестовая кета, массовая гибель, бактерии, Vibrionaceae, река Восточная, озеро Тунайча, остров Сахалин.

**Табл. – 2, ил. – 3, библиогр. – 11.**

**Polteva A. V., Galanina E. V.** Ichthyopathological study of pre-spawning chum salmon that died at the mouth of the Vostochnaya river (the basin of Tunaicha Lake, Sakhalin Island) in September 2019 // Water life biology, resources status and condition of inhabitation in Sakhalin-Kuril region and adjoining water areas : Transactions of the "SakhNIRO". – Yuzhno-Sakhalinsk : "SakhNIRO", 2021. – Vol. 17. – P. 223–230.

The results of ichthyopathological study of several specimens of prespawning chum salmon caught in the mouth of Vostochnaya river (the basin of Tunaicha lake) are presented. The specimens were caught during the period of mass death of fish in the coastal areas adjacent to the mouth. In the absence of external signs of diseases and pathology on the part of internal organs, contamination of the kidneys in fish with bacteria of the family Vibrionaceae was detected.

**KEYWORDS:** pre-spawning chum salmon, mass death, bacteria, Vibrionaceae, Vostochnaya river, Lake Tunaicha, Sakhalin Island.

**Tabl. – 2, fig. – 3, ref. – 11.**

## ВВЕДЕНИЕ

Известно, что причинами гибели лососевых рыб в реках Сахалина в период нерестового хода могут быть как абиотические, так и биотические факторы среды. К первым относятся изменение температуры воды в реках, как правило, ее повышение, низкие концентрации растворенного кислорода, содержание токсичных веществ. Перезаполнение рек производителями, особенно на фоне низкой водности, также может способствовать высокой смертности рыб.

Патогенные бактерии – главный биотический фактор, приводящий к гибели рыб в результате заболеваний. Из известных бактериальных инфекций большую опасность для лососевых Сахалина представляют аэромонады, вызываемые вирулентными формами бактерий рода *Aeromonas*: *Aeromonas salmonicida* – возбудитель фурункулеза и *Aeromonas hydrophila* – возбудитель бактериальной геморрагической септицемии. Геморрагическая септицемия, как показали результаты многолетних исследований, неоднократно была причиной массовой гибели лососей в реках Сахалина (Пученкова, Шкурина 1991; Шкурина, 2000, 2004).

В настоящей работе приведены результаты ихтиопатологических исследований, проведенных с целью установить причину гибели в сентябре 2019 г. преднерестовой кеты в устье р. Восточная и побережье оз. Тунайча.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Для проведения ихтиопатологических исследований были отобраны 3 экз. (самцы) погибшей кеты из р. Восточной (в 80 м от устья выше по течению). Участок отбора рыб и район массовой гибели производителей в оз. Тунайча показаны на рисунке 1.



**Рис. 1.** Участок отбора кеты для ихтиопатологических исследований  
**Fig. 1.** Chum salmon selection site for ichthyopathological studies

В ходе исследований был проведен клинический осмотр рыб, патолого-анатомическое вскрытие, проведены бактериологические посевы почки.

Отбор материала проводили петлей с соблюдением правил асептики. Первичные посевы выполняли на среду следующего состава, г/л: панкреатический гидролизат рыбной муки – 12, пептон ферментативный – 12, натрия хлорид – 6, агар микробиологический – 10, рН 7,1–7,5 (ГРМ-агар, г. Оболенск).

Инкубацию посевов проводили при температуре 23–24 °С в течение 4–6 суток. Для идентификации выделенных бактерий анализировали их культурально-биохимические характеристики. На первых этапах тестирования определяли морфологию клеток, грам-принадлежность (Гр) (тест Грегерсена), наличие цитохромоксидазы (ЦХО). Тип метаболизма и подвижность определяли на среде Хью-Лейфсона с глюкозой. Определение биохимических свойств выделенных бактериальных изолятов проводили с использованием диагностических сред, а также тест-систем быстрой идентификации API 20E (“bioMérieux”, Франция). Таксономическую принадлежность определяли, используя схемы, приведенные в пособии (**Лабораторный практикум...**, 1983) и «Определитель бактерий Берджи» (**Определитель бактерий...**, 1997).

Характеристика сложившихся гидрохимических условий в реке и озере на момент исследований приведена в статье (**Коренева, Полтев, 2020**).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБУЖДЕНИЕ

При осмотре кеты, отобранной для ихтиопатологического исследования, внешних признаков инфекционных заболеваний обнаружено не было. Кожные покровы всех экземпляров были с характерной для нерестового периода окраской. Кета была недавно умершей, о чем свидетельствовало окоченение и сильное ослизнение туловища рыб, наступающее, как правило, в первые часы после гибели рыбы. Травмы от укусов морского зверя и повреждения от паразитирования копепод *Lepeophtheirus salmonis* отсутствовали. У двух экземпляров кеты отмечалось поражение кожных покровов мицелиальными грибами из р. *Saprolegnia*. На отдельных участках тела рыб присутствовали единичные разрастания мицелия с диаметром 0,8–4 см. Патологические изменения глаз, плавников, жаберной крышки отсутствовали. Жабры рыб были без запаха, слегка ослизненные, покрыты песком. Некоторые биологические показатели рыб и выявленные виды патологий представлены в **таблице 1**.

В посевах из почек кеты после инкубации был выявлен обильный рост колоний нескольких типов (**см. табл. 1; рис. 2**). Выделено четыре чистые культуры бактерий (a, b, c, d). У всех культур клетки бактерий были палочковидной формы, грамотрицательные, оксидазоположительные (**рис. 3**).

На среде Хью-Лейфсона бактериальные изоляты окисляли и сбраживали глюкозу с образованием кислоты, а в случае с культурой (c) и газа (**табл. 2**). При очередном пересеве в ходе определения биохимических характеристик выделенных бактерий, одна из культур (d), перестала расти, в связи с чем не удалось продолжить ее тестирование.

Таблица 1

**Биологические показатели, патологические изменения преднерестовой кеты, погибшей в устье р. Восточная в сентябре 2019 г.**

Table 1

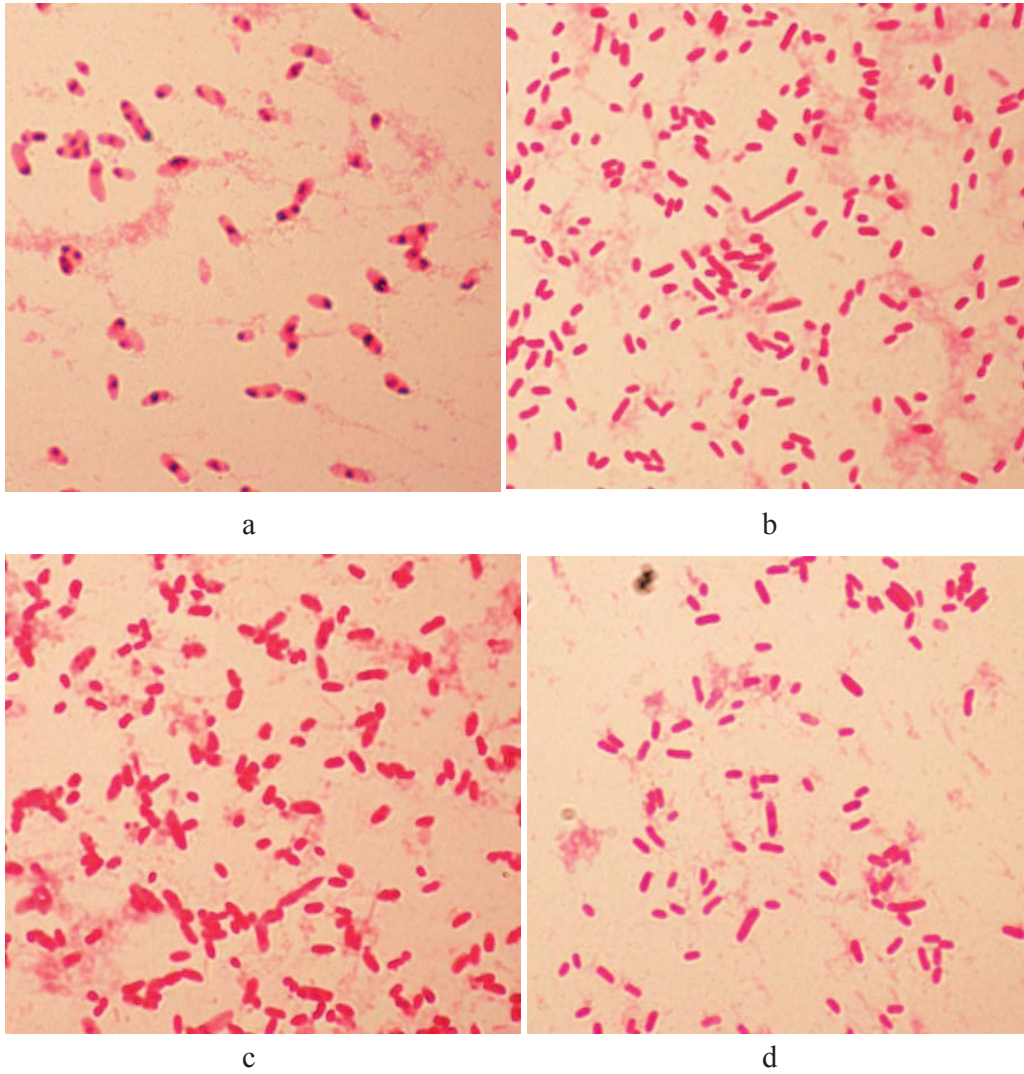
**Biological parameters, pathological changes of pre-spawning chum salmon that died at the mouth of the Vostochnaya River in September 2019**

Характеристика рыб	Образец рыбы		
	1	2	3
Вес тушки (г)	3 475	3 600	3 750
Пол	♂	♂	♂
Цвет жабр	Розовые	Красные	Розовые
Стадия зрелости	4-5	4-5	4-5
Наличие грибов р. <i>Saprolegnia</i> , диаметр пятен разрастания	+ 1 мм	+ 0,8-2,5 мм	+ 2-4 мм
Патология органов брюшной полости	—*	—	Мелкие кровоизлияния во внутренних органах, почка темно-бурого цвета
Выделена культура бактерий	a, b	a, b	c, d

\* Отсутствие.



**Рис. 2.** Рост бактерий, выделенных из почки кеты на среде ГРМ-агар  
**Fig. 2.** Growth of bacteria isolated from chum salmon kidney on GRM-agar medium



**Рис. 3.** Морфология клеток бактерий (a, b, c, d), выделенных от погибшей кеты (окраска фуксином, иммерсия,  $\times 1000$ )  
**Fig. 3.** Morphology of bacterial cells (a, b, c, d) isolated from dead chum salmon (fuchsin staining, immersion,  $\times 1000$ )



Таблица 2

**Морфологические и биохимические характеристики бактериальных культур, выделенных от погибшей кеты**

Table 2

**Morphological and biochemical characteristics of bacterial cultures isolated from dead chum salmon**

Культура бактерий	Внешний вид колоний	Характеристики								
		Гр	ЦХО	ПВ	О/Ф	арг	лиз	орн	ман	глюк
a	d=1–1,5 мм, полупрозрачная, бежевая, выпуклая, с ровным краем	–	+	–	к/к	+	–	–	к	к
b	d=1–1,5 мм, полупрозрачная, бежевая, выпуклая, с ровным краем	–	+	+	к/к	–	–	–	к	к
c	d=3–4 мм, полупрозрачная, выпуклая, фестончатый край	–	+	+	кг/кг	+	+	–	к	к
d	d=1–2 мм, полупрозрачная, бежевая, выпуклая, с ровным краем	–	+	Не определено						

Примечание: О/Ф – окисление/ферментация на среде Хью-Лейфсона; кг/к – кислота-газ/кислота, ПВ – подвижность.

Из субстратов, предлагаемых для проверки биохимических свойств тест-системой 20Е, оставшиеся в работе бактерии окисляли маннозу (ман) и глюкозу (глюк) с образованием кислоты. Все изолированные бактерии были отрицательны по орнитиндекарбоксилазе (орн), вариабельны по лизиндекарбоксилазе (лиз) и аргининдигидролазе (арг).

Биохимическая инертность выделенных культур ограничила возможность их видовой идентификации. По совокупности характеристик, полученных при тестировании, бактерии, выделенные от рыб, принадлежали семейству Vibrionaceae.

К этому семейству относятся бактерии *A. salmonicida*, *A. hydrophila*, *Ph. damsela* subsp. *damsela*, *V. harveyi* и ряд других, способных вызывать патологические процессы у разных видов морских рыб, в том числе и лососевых (Cahill, 1990; Zhang, Austin, 2000; Pedersen et al., 2009). Следует отметить, что все перечисленные виды широко распространены в морской среде, являются обычными представителями планктонных и бентосных микробных сообществ. Некоторые представители семейства входят в состав нормальной микрофлоры кишечника и кожных покровов морских рыб (Urbanczyk et al., 2011). При изменении внешних условий среды эти виды микроорганизмов могут приобретать свойства вирулентных и патогенных бактерий и провоцировать развитие заболеваний. Бактериальное экзогенное и эндогенное инфицирование может происходить и в результате снижения резистентности организма рыб при стрессировании. Стрессовые ситуации возникают по причине резкого ухудшения условий окружающей среды в результате изменения температуры воды, содержания растворенного кислорода, присутствия токсинов, роста численности бактериальной флоры, в том числе патогенной для рыб и т. д. (Голованов, 2015).

Как показал анализ гидрохимической ситуации в приустьевой зоне р. Восточная и прилегающем побережье оз. Тунайча, на исследованном участке под влиянием целого ряда факторов сформировались условия дефицита растворенного кислорода – крайне неблагоприятные для подошедшей на нерест кеты (**Коренева, Полтев, 2020**). Результаты проведенных гидрохимических исследований показали также, что на участках, где была зафиксирована гибель кеты, в воде происходили процессы бактериального разложения органических субстратов, на что указывало присутствие аммонийного азота и нитритов в концентрациях, превышающих значения, характерные для поверхностного слоя озера в летний период. Известно, что процессы деструкции органических субстратов в водоемах сопровождаются снижением концентрации растворенного кислорода, потребляемого на окисление органических веществ микроорганизмами и закономерным ростом численности гетеротрофного микробного сообщества водоема, в состав которого входят представители различных групп и таксонов, в том числе и сем. *Vibrionaceae*. Увеличение численности бактерий повышает риск инфицирования рыб, особенно на фоне изменения параметров окружающей среды при воздействии стресс-факторов.

Таким образом, выявленное инфицирование производителей кеты могло произойти в результате снижения резистентности организма рыб на фоне неблагоприятных условий, сложившихся в озере и реке в сентябре 2019 г. Значительное количество микроорганизмов в почках кеты и отсутствие внешних признаков заболеваний у экземпляров, исследованных в лаборатории, а также у большого количества осмотренных рыб на участке гибели (**Коренева, Полтев, 2020**), могло свидетельствовать о бессимптомном течении инфекционного заболевания неустановленной бактериальной этиологии. Массивная бактериемия и отсутствие клинических признаков характерны для молниеносной формы инфекционных заболеваний. При таком течении болезни происходит внезапная и быстро нарастающая гибель рыб, без внешних проявлений и изменений со стороны внутренних органов. Продолжительность болезни может составлять несколько часов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами результаты ихтиопатологических исследований и выводы, опубликованные по результатам гидрохимических исследований воды, позволяют сделать заключение о том, что причинами гибели кеты могли быть как асфиксия, вызванная дефицитом кислорода, так и инфекционное заболевание, вызванное смешанной культурой бактерий. Нельзя исключать и совокупное влияние нехватки кислорода и бактериальной инфекции, приведшее к массовой гибели, шедшей на нерест кеты.

## ЛИТЕРАТУРА

Голованов В. К. Температура и здоровье рыб. Экологические, физиолого-биохимические и иммунологические аспекты // Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов: расширенные материалы IV Международной конференции, Борок, 24–27 сентября 2015 года / РАН, Федер. агентство науч. орг. России, ФГБУН Ин-т биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН; под ред. В. Р. Микрякова, Е. А. Криксунова, Д. В. Микрякова. – Ярославль : Филлигрань, 2015. – С. 11–19.

Коренева Т. Г., Полтев Ю. Н. О массовой гибели производителей кеты *Oncorhynchus keta* в озере Тунайча и в устье реки Восточная (о. Сахалин) в сентябре 2019 года // Вестник Сахалинского музея. – 2020. – № 4 (33). – С. 143–156.

Лабораторный практикум по болезням рыб / Под ред. В. А. Мусселиус. – М. : Легк. и пищ. Промышленность, 1983. – 296 с.

Определитель бактерий Берджи: В 2 т. Пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита и др. – М. : Мир, 1997. – Т. 1. – 432 с.

Пученкова С. Г., Шкурина З. К. Микрофлора производителей горбуши в период нереста на юге Сахалина // Рыбн. хоз-во. Сер. Аквакультура. – М. : ВНИИПРХ, 1991. – Вып. 2. – С. 1–5.

Шкурина З. К. Аэромоназ кеты в водоемах Сахалина // Паразиты и болезни рыб : Сб. науч. тр. – М. : ВНИРО, 2000. – С. 141–146.

Шкурина З. К., Вялова Г. П. Бактериальные болезни лососей Сахалина // Рыб. хоз-во. Сер. Болезни гидробионтов в аквакультуре. – М. : ВНИЭРХ, 2000. – Вып. 2 – С. 6–16.

Cahill M. M. A Review Virulence factors in motile *Aeromonas* species // J. Appl. Bacteriol. – 1990. – Vol. 69, Issue 1. – P. 1–16.

Pedersen K., Skall H. F., Lassen-Nielsen A. M., Bjerrum L., Olesen N. J. Photobacterium damsela subsp. damsela, an emerging pathogen in Danish rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), mariculture // J. Fish Dis. – 2009. – Vol. 32. – P. 465–472.

Zhang X. H., Austin B. Pathogenicity of *Vibrio harveyi* to salmonids // J. Fish Dis. – 2000. – Vol. 23, Issue 2. – P. 93–102.

Urbanczyk H., Ast J. C., Dunlap P. V. Phylogeny, genomics and symbiosis of *Photobacterium* // Microbiol. Rev. – 2011. – Vol. 35. – P. 324–342.