

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНДИКАТОРНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ
МОНИТОРИНГА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ РЫБ НА
ПРИМЕРЕ *PERCA FLUVIATILIS*
(ОЗЕРО АРАХЛЕЙ, ЗАБАЙКАЛЬСКИЙ КРАЙ)**

© 2010 Е.В. Суханова¹, Е.В. Дзюба¹, Н.Н. Деникина¹, И.Е. Михеев², Е.Б. Матюгина²,
Н.Л. Белькова^{1,3}

¹ Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск

² Институт природных ресурсов, экологии и криологии СО РАН, г. Чита

³ Иркутский государственный университет

Поступила в редакцию 29.04.2010

Многие микроорганизмы-возбудители инфекционных заболеваний рыб являются широко распространенными представителями микробиоценоза воды в естественных водоемах. Проявление их патогенности для рыб связано с изменениями ряда параметров среды обитания и характеристик состояния рыбного населения. Молекулярно-генетические методы на основе полимеразной цепной реакции позволяют корректно определять состав микрофлоры, вызывающей и сопутствующей инфекционным заболеваниям рыб. Проведена молекулярно-генетическая идентификация инфекционных агентов, ставших причиной «аэромоноза» в популяции окуня *Perca fluviatilis* озера Арахлей (Забайкальский край) в 2009 году. Детектированы генотипы бактерий родов *Aeromonas* и *Flavobacterium*, а также представителей рода *Saprolegnia*, подтверждена комплексная этиология заболевания окуня. Предложены виды ключевых индикаторных микроорганизмов для мониторинга состояния среды обитания и инфекционных заболеваний рыб в озерах Забайкалья.

Ключевые слова: мониторинг бактериальных инфекций, индикаторные микроорганизмы, молекулярно-генетическая идентификация

Известно, что возникновение массовых инфекционных заболеваний в популяциях рыб является сложным процессом и требует наличия ряда взаимосвязанных звеньев: патогенного возбудителя, восприимчивого хозяина и конкретных условий окружающей среды, способствующих развитию эпизоотического процесса. Часто именно изменение факторов внешней среды служит «пусковым механизмом» эпизоотий [25]. Для оценки социального ущерба от изменения экологического состояния водоемов одной из ключевых групп являются сообщества водных микроорганизмов, а проведение мониторинга с использованием современных молекулярно-генетических методов оказывается перспективным и актуальным [6].

Характеристика конкретной экологической ситуации. Озеро Арахлей располагается на юге Витимского плоскогорья и принадлежит бассейну оз. Байкал. По уровню продукции органического вещества относится к мезотрофным водоемам [3]. В период с начала 90-х гг. в озере отмечены следующие изменения: значительное сокращение общей площади распространения водной растительности, ограничивающейся глубинами распространения нителлы до 6,0 м [1]; смена у юго-восточного берега формации мхов на чистую формацию зеленой нитчатой водоросли *Cladophora aegagropila* [9, 13]. Существенные изменения произошли и в зообентоценозах: сокращение зоны обитания фитофильных беспозвоночных и увеличение пелофильных [8, 11, 12]. Изменения структуры биоценозов озера Арахлей необходимо рассматривать в комплексе показателей, одним из которых является эвтрофирование, вызванное природными и антропогенными факторами.

В арахлейской популяции окуня *Perca fluviatilis* в 2008 г. наблюдалась максимальная биомасса за последние 20 лет [14], а уже в 2009 г. отмечена вспышка аэромоноза окуня [15]. Региональной Госветслужбой Забайкальского края проведены соответствующие экспертизы рыб с подозрением на аэромоноз (ГУ «Забайкальская

Суханова Елена Викторовна, аспирантка. E-mail: sukhanova@lin.irk.ru

Дзюба Елена Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник. E-mail: e_dzuba@lin.irk.ru

Деникина Наталья Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник. E-mail: denikina@lin.irk.ru

Михеев Игорь Евгеньевич, кандидат географических наук, старший научный сотрудник. E-mail: mihcevi@mail.ru

Матюгина Евгения Борисовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник. E-mail: evgenia48@mail.ru

Белькова Наталья Леонидовна, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник. E-mail: belkovan@mail.ru

краевая ветеринарная лаборатория» экспертизы от 07.04.2009 № 6897/329-334, от 23.04.2009 № 16992/380-386, от 25.03.2009 г. № 115 ФГУЗ «Читинская противочумная станция»).

Сведения о бактериальных инфекциях окуня ограничены, хотя ранее сообщалось о различных микроорганизмах, ассоциированных с этим видом [32, 38 и др.]. В целом инфекционные болезни рыб в естественных условиях регистрируются относительно редко, возможно, по причине быстрой гибели и природной утилизации больных особей [5]. Наиболее часто возбудителями инфекций являются патогенные штаммы бактерий, относящиеся к родам *Aeromonas*, *Cytophaga*, *Pseudomonas*, *Vibrio* и др. [4]. При этом один и тот же возбудитель может вызывать отличающиеся друг от друга патологические изменения у разных видов рыб и при разных условиях. Для некоторых изолированных штаммов отмечена избирательная патогенность по отношению к определенным видам рыб [33]. Каждый из штаммов может являться причиной заболевания самостоятельно, в ассоциациях друг с другом или другими микроорганизмами [5]. В свою очередь бактерии родов *Aeromonas* и *Pseudomonas* способствуют возникновению сходных клинических признаков заболеваний у многих видов рыб.

Ввиду комплексной этиологии инфекционных поражений внешних покровов рыб проведение идентификации микроорганизмов связано с рядом трудностей: 1) возбудители инфекций часто относятся к нормальной микрофлоре водных сообществ и патогенные виды могут успешно «маскироваться» сапрофитными формами этого же или близкого по физиолого-биохимическим свойствам рода; 2) для отдельных патогенных микроорганизмов доказана способность переходить в некультивируемое, но жизнеспособное состояние, при этом клетки сохраняют вирулентность; 3) для культивирования некоторых бактерий требуется значительное время. Определение и идентификация таких микроорганизмов возможно только молекулярно-генетическими методами на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР). В последнее время показано, что метод является более чувствительным и эффективным, причем использование мультиплексных ПЦР позволяет одновременно детектировать несколько целевых агентов [20, 32, 37]. Прямой анализ маркерных фрагментов геномов позволяет избегать проблем культивирования и неспецифической детекции, а также корректно и быстро выявлять целевые группы микроорганизмов в пробах биологического материала.

Микроорганизмы, вызывающие язвенные поражения внешних покровов рыб, являются широко распространенными и присутствуют в воде в обычном природном окружении. В нормальных условиях водные животные обладают

достаточной устойчивостью к заболеваниям. При изменении экологической ситуации в водоемах возникает риск развития бактериальных инфекций гидробионтов, поэтому определение ключевых индикаторных видов региональных патогенных агентов и разработка современных методов проведения их мониторинга является актуальной и важной научной задачей.

Цели настоящего исследования – молекулярно-генетическая идентификация микроорганизмов, вызвавших эпизоотию в популяции окуня озера Арахлей и определение ключевых индикаторных видов микроорганизмов для мониторинга состояния среды обитания гидробионтов.

Материалы и методы. В августе 2009 г. из озера Арахлей взяты 10 экз. окуня с язвенными проявлениями на внешних покровах. Рыб отлавливали жаберными сетями (ячея 12-70 мм). Соскобы с внешних покровов рыб фиксировали лизирующим раствором (наборы РИБО-сорб, ДНК-сорб, «АмплиСенс», Москва), проводили выделение ДНК по модифицированной методике, ПЦР – на консервативных бактериальных праймерах [2]. Для лигирования брали суммарные ампликоны и использовали набор GeneJET™ PCR Cloning Kit (Fermentas) и CaCl₂-компетентные клетки *Escherichia coli* (штамм XL-1) [36]. Анализировали все выросшие колонии. Определение нуклеотидных последовательностей осуществляли на приборе ABI 3130xl (Genetic Analyzer, США) в Межинститутском центре секвенирования ДНК (г. Новосибирск). Для сравнительного и филогенетического анализа данных, полученных нами и зарегистрированных в международной базе EMBL банка, использовали пакеты программ FASTA (<http://www.ebi.ac.uk/fasta33>), ClustalW и Mega v3.1.

Результаты и обсуждение. Доля рыб с язвенными поражениями в августе 2009 г. составляла около 50% от общего улова окуня. У рыб наблюдались кровотокающие язвы диаметром 0,6-1,5 см и ерошение чешуи по всему внешнему покрову. Молекулярно-генетический анализ соскобов внешних покровов больных рыб выявил представителей родов *Aeromonas* (2 генотипа), *Flavobacterium* (1) и *Saprolegnia* (1), имеющих сходство с патогенными и условно патогенными микроорганизмами.

Представители рода *Aeromonas* являются широко распространенными эвригалинными эвритермными бактериями. Многие виды патогенны для позвоночных животных. Заболевания рыб, вызванные *Aeromonas* spp., в аквакультуре характеризуются высокой летальностью. Наиболее полно изучен «фурункулез» - системная болезнь лососевых рыб, вызываемая *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* [16]. Другие подвиды *A. salmonicida* вызывают системные и язвенные болезни у многих промысловых видов рыб [24]. Мезофильные аэромонады (*A.*

hydrophila, *A. caviae* и *A. sobria*), чаще всего поражают тепловодных прудовых рыб [35]. Клинические симптомы болезни представлены поражениями внешних покровов в хронических состояниях и септицемии (форма сепсиса, при которой наличие патогенных микроорганизмов в крови не сопровождается образованием очагов гнойного воспаления) в случаях острого заболевания.

Ранее заболевание и гибель окуня, вызванные бактериями рода *Aeromonas*, описаны в

1979 г. в альпийском озере во Франции [33]. От рыб с геморрагическими и язвенными клиническими симптомами был изолирован штамм *A. hydrophila*, патогенный для окуня и непатогенный для карпа и форели. Патогенный *A. sobria* явился причиной язвенной болезни окуня в аквакультуре [23]. В Швейцарии заболевания рыб, вызванные первичным инфекционным агентом *A. sobria* привели к значительным потерям европейского окуня *P. fluviatilis* в естественных водоемах [38].

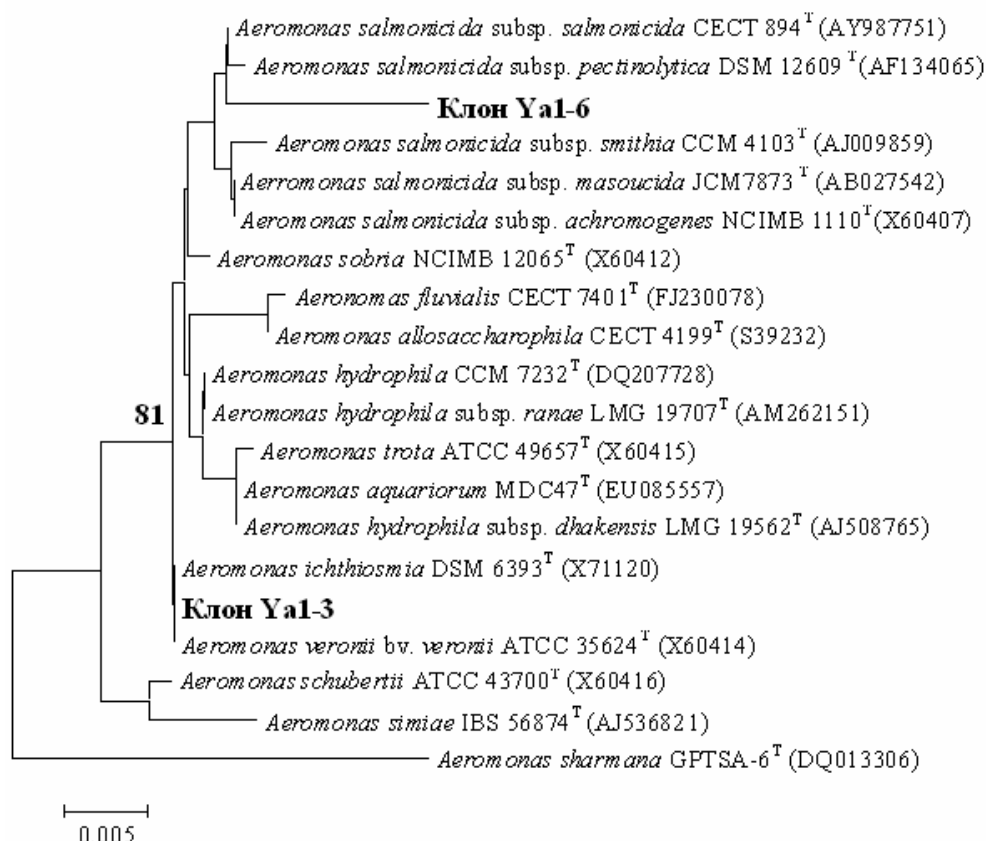


Рис. Бескорневое филогенетическое древо типовых штаммов *Aeromonas* и последовательностей, полученных из язвенных проявлений на внешних покровах окуня, построенное методом объединения ближайших соседей с использованием пакета программ Mega v3.1. Масштаб соответствует 5 заменам на 1000 п.н. Цифрой указана бутстреп поддержка ветвления кластера типового штамма *Aeromonas veronii*, рассчитанная по 100 репликам. В скобках указаны номера последовательностей типовых штаммов в базе данных; последовательности, полученные в данной работе, выделены жирным шрифтом.

Мы определили 2 генотипа, имеющие среди ближайших родственников филогенетически удаленные патогенные штаммы аэромонад (см. рис.). Клон Ya1-6 близок *A. salmonicida*, т.к. его последовательность формирует общий кластер с последовательностями типовых штаммов *Aeromonas* этого вида, не смотря на отличия в консервативной области 730-752 п.н. (по 16S рДНК *A. salmonicida* subsp. *pectinolytica* DSM 12609^T, AF134065). Это широко известные патогенные для рыб штаммы, которые вызывают системные и язвенные болезни у многих промысловых видов рыб. Последовательность Ya1-3 кластеризуется с типовыми штаммами *Aeromonas*

ichthiosmia DSM 6393^T (X71120) и *Aeromonas veronii* bv. *veronii* ATCC 35624^T (X60414). Эти штаммы признаны конспецифичными на основе полученных ранее молекулярных данных: филогенетического анализа по гену малой субъединицы РНК [17], ДНК-ДНК гибридизации [27] и результатов AFLP анализа [26]. Штамм *A. veronii* bv. *veronii* может вызывать геморрагическую септицемию у различных видов рыб [34]. Таким образом, полученные генотипы принадлежат видам аэромонад, мониторинг которых необходимо проводить регулярно для оценки состояния среды обитания водных организмов.

Представители рода *Flavobacterium* – известные этиологические агенты заболеваний «rainbow trout fry syndrome» (RTFS) и «bacterial cold water disease» (BCWD), вызывающие гибель лососевых Salmonidae [18] и аювых *Plecoglossus altivelis* [39] рыб в аквакультуре. *F. psychrophilum* первоначально определен как типичный патоген лососевидных рыб: заболевшие и мертвые рыбы в естественных условиях обитания являются источником распространения и заражения через водную среду обитания. В последнее время этот вид был выделен из воды, водорослей, экскрементов и органического детрита прудовых хозяйств. Кроме того, он отмечен у больных рыб как в аквакультуре: сазана *Cyprinus carpio*, линя *Tinca tinca*, обыкновенного карася *Carassius carassius*, так и в природных популяциях речного угря *Anguilla anguilla*, закло *Zacco platypus* и лососевых [32]. Таким образом, существует несколько известных потенциальных резервуаров этой инфекции. Ранее *F. psychrophilum* культивировали [32] и определяли в ПЦР [28] у окуня в естественных водоемах, но предполагалось, что он является лишь носителем инфекции, т.к. на рыбах не регистрировали патологических проявлений. Активное развитие технологий культивирования окуня в некоторых странах послужило причиной возникновения пристального внимания к этому виду и его потенциальным патогенам. Появились сообщения о выделении и идентификации *F. psychrophilum*, связанного с некрозом тканей в области рта и со смертностью окуня в условиях аквакультуры [31]. Полученный нами генотип на проанализированном фрагменте гена 16S рРНК полностью совпадает с последовательностями разных штаммов *F. psychrophilum*. Следовательно, в данном контексте этот вид следует рассматривать как индикаторный и требующий дальнейшей разработки методов его определения и мониторинга.

Семейство Saprolegniaceae (Oomycetes) включает широко распространенные микроскопические водные грибы, которые обычно ведут сапрофитный образ жизни на растениях и животном донном осадке [30]. Представители некоторых видов могут также быть патогенными для растений [29], рыб [21, 40] и ракообразных [22]. Большинство этих видов, принадлежащих родам *Achlya*, *Dictyuchus* и *Saprolegnia*, являются этиологическими агентами микозов рыб. Они являются условно-патогенными организмами, которые вызывают заболевание «сапролегниоз». Заболевание широко распространено в случаях слишком высокой плотности рыбного населения [19]. Сапролегниоз часто сопутствует ряду инфекций и инвазий, осложняя их у травмированных или ослабленных особей. При этом наиболее опасными являются представители комплекса видов *S. diclina*-*S. parasitica*, для которых

характерно образование вторичных кист и косвенное прорастание в здоровые ткани пораженных рыб. Нам удалось определить генотип, на исследованном участке не отличающийся от *S. parasitica*, что свидетельствует о существовании потенциальной угрозы массового поражения всего рыбного населения озера Арахлей и позволяет отнести этот вид к индикаторным микроорганизмам.

Следует отметить, что ранее гибель окуня с симптомами аэромоноза наблюдали и в других водоемах этого региона. Так, в 2004 г. в озере Шакша (Ивано-Арахлейские озера) в уловах были отмечены особи со схожими проявлениями на внешних покровах. Аналогичная ситуация в последние годы сложилась и в водоемах Республики Бурятия. В 2002-2003 гг. вспышка аэромоноза зарегистрирована в озерах Еравно-Харгинской системы, в 2004 г. – в озере Гусином. Гибель окуня с похожими клиническими проявлениями описана в Чивыркуйском заливе озера Байкал и в Братском водохранилище [7, 10]. Очевидно, что возбудители аэромоноза присутствуют в большинстве водоемов, а наличие или отсутствие гибели рыб и ее масштабы зависят в основном от факторов окружающей среды, влияющих на резистентность организма рыб, и сопутствующей микрофлоры. Мы определили комплексную этиологию этого заболевания и считаем, что все три агента *Aeromonas*, *Flavobacterium* и *Saprolegnia* являются ключевыми видами индикаторных микроорганизмов для мониторинга состояния среды обитания и инфекционных заболеваний рыб в озерах Забайкалья и республики Бурятия, основанного на современных, быстрых и эффективных методах.

Работа выполнена в рамках программы РАН № 26, подпрограммы 1, проект 26.13.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Базарова, Б.Б.* Структура и продуктивность растительности водных экосистем Восточного Забайкалья (на примере бассейна реки Хилок). Автореф. дисс. канд. биол. наук. Улан-Удэ, 2003. – 18 с.
2. *Белькова, Н.Л.* Введение в молекулярную экологию микроорганизмов: Учебно-методическое пособие / *Н.Л. Белькова, А.М. Андреева.* – Ярославль: Изд-во ООО «Принтхаус», 2009. – 91 с.
3. *Бондарева, Е.И.* Первичная продукция Ивано-Арахлейских озер / *Е.И. Бондарева, Б.А. Шишкин* // Зап. Заб. фил. Геогр. общ-ва СССР. – Чита, 1972. – Вып. 80. – С. 42-62.
4. *Васильков, Г.В.* Болезни рыб: Справочник. Под ред. *В.С. Осетрова.* 2-е изд. / *Г.В. Васильков, Л.И. Грищенко, В.Г. Енгашев* и др. – М.: Агропромиздат, 1989. – 288 с.
5. *Гаевская, А.В.* Паразиты и болезни морских и океанических рыб в природных и искусственных условиях. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2004. – 237 с.

6. Дзюба, Е.В. Современные подходы и методология экологического мониторинга в условиях водоема и в аквакультуре / Е.В. Дзюба, Н.Л. Белькова, Н.В. Деникина и др. // Известия Самарского научного центра РАН. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 466-471.
7. Елизов, В.И. Аэромоназ в регионе Байкала // Биоразнообразие экосистем Внутренней Азии: Тез. Всеросс. конф. с межд. уч. – Улан-Удэ: БНЦ СО РАН, 2006. – Т. 2. – С. 151-154.
8. Итигилова, М.Ц. Современное состояние зообентоса озера Арахлей (Забайкалье) / М.Ц. Итигилова, П.В. Матафонов // Проблемы воды и водных ресурсов на рубеже третьего тысячелетия: Материалы межд. конф. – Томск: Изд-во НТЛ, 2000. – С. 548-550.
9. Куклин, А.П. Фитопланктон, водоросли обрастающий и первичная продукция органического вещества // Ивано-Арахлейский заказник: природно-ресурсный потенциал. Чита: Поиск, 2002. – С. 80-84.
10. Купчинский, А.Б. Состояние ихтиофауны водохранилищ Ангары / А.Б. Купчинский, Е.С. Купчинская // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2006. – Т. 48, № 2. – С. 56-61.
11. Матафонов, П.В. Зообентос / П.В. Матафонов, Д.В., Матафонов // Ландшафтное и биологическое разнообразие бассейна реки Хилек: Опыт изучения и управления. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2002а. – С. 110-116.
12. Матафонов, П.В. Зообентос озера Арахлей / П.В. Матафонов, Д.В. Матафонов // Ивано-Арахлейский заказник: природно-ресурсный потенциал территории. – Чита: Поиск, 2002б. – С. 89-96.
13. Матафонов, П.В. Сообщества зообентоса водоросли *Cladophora aegagropila* в озере Арахлей / П.В. Матафонов, Д.В. Матафонов, А.П. Куклин // Озера холодных регионов: Материалы межд. конф. Ч. 2 – Якутск: изд-во Якутского ун-та, 2000. – С. 127-136.
14. Михеев, И.Е. Факторы риска для популяции окуня *Perca fluviatilis* (озеро Арахлей, Забайкальский край) / И.Е. Михеев, Е.Б. Матюгина // В печати.
15. Михеев, И.Е. Новые факторы риска для рыбных ресурсов в бассейне Верхнего Амура (Забайкалье) // Третьи Дружининские чтения: Комплексные исследования в бассейне реки Амур: Мат. науч. конф. – Хабаровск: ДВО РАН, 2009. – кн. 2. – С. 225-228.
16. Austin, B. Progress in understanding the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* // Trends in Biotechnology. – 1997. – V. 15. – P. 131-134.
17. Collins, M.D. *Aeromonas enteropelogenes* and *Aeromonas ichthiosmia* are identical to *Aeromonas trota* and *Aeromonas veronii*, respectively, as revealed by small-subunit rRNA sequence analysis / M.D. Collins, A.J. Martinez-Murcia, J. Cai // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1993. – V. 43. – P. 855-856.
18. Dalsgaard, I. Virulence mechanisms in *Cytophaga psychrophila* and other *Cytophaga*-like bacteria pathogenic for fish // Annu. Rev. Fish. Dis. – 1993. – V. 1. – P. 127-144.
19. De Kinkelin, P. Précis de pathologie des poissons / P. De Kinkelin, C. Michel, P. Ghittino // Institut National de la Recherche Agronomique - OIE, Paris, 1985. – 348 pp.
20. Del Cerro, A. Simultaneous detection of *Aeromonas salmonicida*, *Flavobacterium psychrophilum*, and *Yersinia ruckeri*, three major fish pathogens, by multiplex PCR / D. del Cerro, I. Marquez, J.A. Guijarro // Appl. Environ. Microbiol. – 2002. – V. 68. – P. 5177-5180.
21. Denis, A. Saprolegniales de poissons. Epidémiologie, thérapie, biotaxonomie // Thèse. Université Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 1985. – 136 pp.
22. Dieguez-Urbeondo, J. Adaptation to parasitism of some animal pathogenic Saprolegniaceae. Universitat Upsaliensis, Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology, 1995. – 83. ISBN 91-554-3527-0. – 122 p.
23. Goldschmidt-Clermont, E. Identification of bacteria from the normal flora of perch, *Perca fluviatilis* L., and evaluation of their inhibitory potential towards *Aeromonas* species / E. Goldschmidt-Clermont, T. Wahli, J. Frey, S.E. Burr // J. Fish Dis. – 2008. – V. 31. – P. 353-359.
24. Gudmundsdottir, B.K. Infections by atypical strains of the bacterium *Aeromonas salmonicida* // Icel. Agr. Sci. – 1998. – V. 12. – P. 61-72.
25. Hastein, T. Bacterial vaccines for fish – an update of the current situation worldwide / T. Hastein, R. Gudding, O. Evensen // Dev. Biol. – 2005. – V. 121. – P. 55-74.
26. Huys, G. High-resolution genotypic analysis of the genus *Aeromonas* by AFLP fingerprinting / G. Huys, R. Coopman, P. Janssen, K. Kersters // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1996 – V. 46. – P. 572-580.
27. Huys, G. New DNA-DNA hybridization and phenotypic data on the species *Aeromonas ichthiosmia* and *Aeromonas allosaccharophila*: *A. ichthiosmia* Schubert et al. 1990 is a later synonym of *A. veronii* Hickman-Brenner et al. 1987 / G. Huys, P. Kampf, J. Swings // Syst. Appl. Microbiol. – 2001. – V. 24. – P. 177-182.
28. Izumi, S. Detection and identification of *Flavobacterium psychrophilum* from gill washings and benthic diatoms by PCR-based sequencing analysis / S. Izumi, H. Fujii, F. Aranishi // J. Fish Dis. – 2005. – V. 28. – P. 559-564.
29. Larsson, M. Pathogenicity, morphology and isozyme variability among isolates of *Aphanomyces* spp. from weeds and various crop plants // Mycol. Res. – 1994. – V. 98. – P. 231-240.
30. Liu, C. On the ecology of the Saprolegniaceae / C. Liu, P.A. Volz // Phytologica. – 1976. – V. 34. – P. 209-230.
31. Lonnstrom, L.-G. *Flavobacterium psychrophilum* associated with mortality of farmed perch, *Perca fluviatilis* L. / L.-G. Lonnstrom, M.L. Hoffren, T. Wiklund // J. Fish Dis. – 2008. – V. 31. – P. 793-797.
32. Madetoja, J. Occurrence of *Flavobacterium psychrophilum* in fish-farming environments / J. Madetoja, I. Dalsgaard, T. Wiklund // Dis. Aquatic Organ. – 2002. – V. 52. – P. 109-118.
33. Michel, C. A bacterial disease of perch (*Perca fluviatilis* L.) in an alpine lake: isolation and preliminary study of the causative organism // J. Wildl. Dis. – 1981. – V. 17. – P. 505-510.

34. *Rahman, M.* Identification and characterization of pathogenic *Aeromonas veronii* Biovar *Sobria* associated with epizootic ulcerative syndrome in fish in Bangladesh / *M. Rahman, P. Colque-Navarro, I. Kühn* et al. // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2002, V. 68. – P. 650-655.
35. *Roberts, R.J.* Mycotic aspects of epizootic ulcerative syndrome (EUS) of Asian fishes / *R.J. Roberts, L.G. Willoughby, S. Chinabut* // *J. Fish Dis.* – 1993. – V. 16. – P. 169-183.
36. *Sambrook, J.* Molecular Cloning. A laboratory Manual. Vol. 2 / *J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis.* – Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. – 345 pp.
37. *Tirola, M.* Diagnosis of flavobacteriosis by direct amplification of rRNA genes / *M. Tirola, E.T. Valtonen, P. Rintamaki-Kinnunen, M.S. Kulomaa* // *Dis. Aquatic Organ.* – 2002. – V. 51. – P. 93-100.
38. *Wahli, T.* *Aeromonas sobria*, a causative agent of disease in farmed perch, *Perca fluviatilis* L. / *T. Wahli, S.E. Burr, D. Pugovkin* et al. // *J. Fish Dis.* – 2005. – V. 28. – P. 141-150.
39. *Wakabayashi, H.* A study on serotyping of *Cytophaga psychrophila* isolated from fishes in Japan / *H. Wakabayashi, T. Toyama, T. Iida* // *Fish Pathol.* – 1994. – V. 29. – P. 101-104.
40. *Willoughby, L.G.* Saprolegnias of salmonid fish in Windermere: a critical analysis // *J. Fish Dis.* – 1978. – V. 1. – P. 51-67.

**DEFINITION OF INDICATING MICROORGANISMS FOR MONITORING
FISHES INFECTIOUS DISEASES ON THE EXAMPLE OF *PERCA
FLUVIATILIS* (LAKE ARAHLEY, ZABAİKALSKIY KRAY)**

© 2010 E.V. Suhanova¹, E.V. Dzyuba¹, N.N. Denikina¹, I.E. Miheev², E.B. Matyugina²,
N.L. Belkova^{1,3}

¹Limnological Institute of SB RAS, Irkutsk

²Institute of Natural Resources, Ecology and Cryology of SB RAS, Chita

³Irkutsk State University

Many microorganisms-activators of fishes infectious diseases are eurytopic representatives of water microbiocenosis in natural reservoirs. Exhibiting of their disease-inciting power for fishes is connected with changes of some parameters of inhabitancy and characteristics of the fish population state. Molecular-genetic methods on the basis of polymerase chain reaction allow to determine correctly a compound of microflora causing and accompanying infectious diseases of fishes. Molecular-genetic identification of the contagious agents who have become the reason of «aeromonosis» in the population of perch *Perca fluviatilis* in lake Arahley (Zabaikalskiy Kray) in 2009 is lead. Genotypes of bacteria of genera *Aeromonas* and *Flavobacterium* are detected, and also representatives of genus *Saprolegnia*, is confirmed complex etiology of perch diseases. Kinds of main indicator microorganisms for monitoring the state of inhabitancy and infectious diseases of fishes in lakes of Zabaikalye are offered.

Key words: *bacterial infections monitoring, indicating microorganisms, molecular-genetic identification*

Vera Sukhanova, Post-graduate Student. E-mail: sukhanova@lin.irk.ru

Elena Dzyuba, Candidate of Biology, Senior Research Fellow. E-mail: e_dzyuba@lin.irk.ru

Nataliya Denilina, Candidate of Biology, Senior Research Fellow. E-mail: denikina@lin.irk.ru

Igor Miheev, Candidate of Geography, Senior Research Fellow. E-mail: miheevi@mail.ru

Evgeniya Matyugina, Candidate of Biology, Research Fellow. E-mail: evgenia48@mail.ru

Nataliya Belkova, Candidate of Biology, Senior Research Fellow. E-mail: belkovan@mail.ru