

УДК: 639.3.091:612.11/.12(476)

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.172

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИНТЕСТИНАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА ФОРЕЛИ РАДУЖНОЙ, ОТОБРАННОЙ С РАЗЛИЧНЫХ РЫБОВОДНЫХ ХОЗЯЙСТВ РЕСПУБЛИКИ КАРЕЛИЯ

Сидорова Н.А.¹ – канд. биол. наук, доцент; Карпенко Л.Ю.² – д-р биол. наук, проф.; Бахта А.А.² – канд. биол. наук, доц.; Савушкин А.И.¹ – науч. сотр.; Никонов И.Н.² – канд. биол. наук, асс.

¹ ФГБОУ ВО «ПетрГУ»;

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*l.u.karpenko@mail.ru

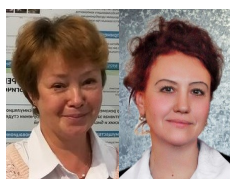
Ключевые слова: аквакультура, микробиом, мониторинг, радужная форель
Keywords: aquaculture, microbiome, monitoring, rainbow trout

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 322-23 (Соглашение № 23-16-20026), проводимого совместно с Республикой Карелия с финансированием из Фонда венчурных инвестиций Республики Карелия (ФВИ РК).

Поступила: 27.02.2024

Принята к публикации: 25.03.2024

Опубликована онлайн: 02.04.2024



РЕФЕРАТ

Микробиоценоз кишечника рыб представлен полостной и пристеночной микрофлорой, обладающей сложными функциональными связями между собой и с кишечной стенкой. Цель исследования заключалась в выявлении особенностей биоразнообразия интестинальной микрофлоры кишечника радужной форели, выращенной в рыбноводных хозяйствах Карелии. Изучение интестинальной микрофлоры кишечника радужной форели выполняли на базе рыбноводных хозяйств РК, территориально расположенных в акватории 4 водоемов, отличающихся комплексом гидрологических, гидрохимических и гидробиологических характеристик. Это Кондопожская губа Онежского озера, залив Рауталаhti Ладожского озера, Крошнозеро и озеро Насоновское. Для статистической обработки полученных данных по результатам сравнительного анализа интестинальной микрофлоры кишечника исследуемых групп радужной форели применяли составление вариационного ряда, расчет средней величины исследуемого признака и среднюю стандартную ошибку. Объектом исследования для изучения состава интестинальной микрофлоры кишечника стала радужная форель *Parasalmo mykiss* (Walbaum, 1792) породы «Рофор». Микробиологический анализ показал, что качественная и количественная изменчивость микробиома кишечника отличается в зависи-

мости от среды выращивания форели. Выделены 14 функциональных групп бактерий: целлюлозолитики, бациллы, лактобациллы, бифидобактерии, селеномонады, актинобактерии, энтеробактерии, фузобактерии, пептококки, стафилококки, кампилобактерии, патогенные клостридии, пастереллы и псевдомонады. Доля целлюлозолитиков (Eubacteriaceae, Clostridiaceae, Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Bacteroidetes и т.д.) изменялась от 49.1 до 55.3%; бацилл – от 0,9 до 8,7%, лактобацилл – от 5,0 до 13,7%.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Филогенетические группы микроорганизмов в составе слизистой оболочки кишечника обладают большим разнообразием важных функций. Это регуляция биохимических процессов, защита от колонизации условно-патогенными и патогенными бактериями, восстановление целостности кишечного эпителия, синтез биологически активных соединений, контроль иммунологического равновесия [Vasemagi et al., 2017]. Негативное воздействие факторов окружающей среды, включая абиотические и биотические параметры, нерациональную антибиотикотерапию, несбалансированные рационы, стрессы часто приводят к нарушению биоразнообразия нормофлоры кишечника, избыточному росту патогенов, проникновению их во внутренние среды с последующим развитием бактериальных инфекций и целого комплекса патологических процессов в органах и системах макроорганизма.

Микробиоценоз кишечника рыб представлен полостной и пристеночной микрофлорой, обладающей сложными функциональными связями между собой и с кишечной стенкой. К настоящему времени, благодаря выполненному филогенетическому анализу и идентификации микроорганизмов *in situ* установлено, что в составе микробного сообщества кишечника радужной форели преобладают β -протеобактерии (*Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Plesiomonas*, *Proteus*) и γ -протеобактерии (*Aeromonas* и *Enterobacteriaceae*) [Spanggaard et al., 2000; Huber et al., 2004]. В работе Parshukov A.N. et al., (2019) сообщается о составе кишечной микрофлоры во время острой стадии бактериальной инфекции. В результате анализа микрофлоры желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) 29 экземпляров трехгодови-

ков радужной форели обнаружено, что альфа-разнообразие (индексы Chao1, Simpson и Shannon) микробного сообщества у клинически здоровых особей радужной форели значительно выше, чем у больных рыб. В работе Zhou C., Yang S., Ka W. et al. (2022) описаны результаты исследования, проведенного на радужной форели в условиях повышенной температуры. Обнаружено, что тепловой стресс серьезно влияет на питание, рост, иммунитет и устойчивость к болезням. Эти изменения тесно связаны с нарушением функции кишечного барьера, изменением кишечной микрофлоры и метаболической дисфункцией на уровне ЖКТ. Установлено, что с увеличением температуры, относительное обилие и разнообразие кишечной микрофлоры значительно снижаются. Изменения метаболитов, связанных с аминокислотами, витаминами и короткоцепочечными жирными кислотами в сыворотке крови радужной форели при стрессе, сильно коррелируют со снижением относительного обилия различных кишечных микроорганизмов. Стресс также серьезно влияет на структуру кишечника и функцию анатомо-физиологического барьера, а также вызывает патологические повреждения эпителиальных клеток. Полученные авторами результаты исследований свидетельствуют, что при разных условиях товарного выращивания рыбы, микробиом кишечника радужной форели остро реагирует на стресс, способствует нарушению передачи метаболитов через кишечный барьер, влияя на его целостность.

В исследовании Pelusio N. F. et al. (2020), посвященном изучению влияния органических кислот (ОК) и природно-идентичных соединений (ПИС) на радужную форель выявлено, что в случае температурного стресса добавление в рацион

форели органических кислот и идентичных природных соединений не устраняют эффекты, вызванные повышением температуры воды. Высокая температура воды активирует цитокины и снижает разнообразие микробиома. При этом, подобранный рацион не оказывает существенного влияния на экспрессию кишечных цитокинов и микробиом кишечника. Установлено, что важным фактором, влияющим на структуру кишечной микрофлоры, является изменение pH кишечника в кислую сторону, что благоприятно сказывается на развитии грамотрицательной микрофлоры [Sehnal et al., 2021].

В контексте использования пробиотических микроорганизмов или пребиотических добавок для модификации микрофлоры кишечника рыб, известны результаты исследований биоразнообразия интестинальной микрофлоры форели [Pond et al., 2006]. Для устранения недостатка данных, связанных с природой выявленной микрофлоры, которая должна быть модифицирована до или после пробиотической терапии, выполнена работа, направленная на изучение нормальной микрофлоры кишечника радужной форели с использованием как традиционных бактериологических, так и молекулярных методов. Проанализирована микрофлора кишечника популяции радужной форели, выращенной в лабораторных условиях. Бактерии, выделенные с использованием бактериологических методов, были идентифицированы с использованием системы BiOLOG и секвенирования гена 16S рПНК. В качестве доминантов выделены *Aeromonas* spp. и *Carnobacterium piscicola*, что свидетельствует о стабильности микрофлоры рыбы, содержащейся в заданных условиях эксперимента. Анализ полиморфизма длины рестрикционного фрагмента (RFLP) и последовательности гена 16S рПНК были использованы для исследования анаэробных и некультивируемых бактерий. К доминантному облигатному анаэробу микрофлоры кишечника исследуемой группы форели отнесен вид *Clostridium gasigenes*.

Проанализированные литературные

источники указывают на разноплановость исследований микрофлоры кишечника радужной форели и в тоже время подтверждают актуальность подходов к всестороннему изучению кишечной бактериофлоры объектов аквакультуры. Важность состава интестинальной микрофлоры кишечника для состояния здоровья рыбы, а также вопросы, связанные с условиями колонизации кишечника рыб нормальными микроорганизмами, до сих пор остаются открытыми. Необходимо комплексно подходить к изучению состава кишечной микрофлоры при разных условиях выращивания, что чрезвычайно важно для разработки и внедрения в практику индустриального рыборазведения альтернативных способов терапевтической защиты здоровья кишечника объектов аквакультуры. Цель исследования заключалась в выявлении особенностей биоразнообразия интестинальной микрофлоры кишечника радужной форели, выращенной в рыбоводных хозяйствах Карелии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования для изучения состава интестинальной микрофлоры кишечника стала радужная форель *Parasalmo mykiss* (Walbaum, 1792) породы «Рофор», имеющая соответствующее таксономическое описание по классификации Артамоновой В.С. и Махрова А.А. (2016).

Изучение интестинальной микрофлоры кишечника радужной форели выполняли на базе рыбоводных хозяйств РК, территориально расположенных в акватории 4 водоемов, отличающихся комплексом гидрологических, гидрохимических и гидробиологических характеристик. Это Кондопожская губа Онежского озера, залив Рауталаhti Ладожского озера, Крошнозеро и озеро Насоновское. На момент исследования (июль-август 2023 г) условия содержания радужной форели в рыбоводных хозяйствах соответствовали технологическим требованиям согласно Руководству по ветеринарно-санитарному контролю (2018). Основные гидролого-гидрохимические показатели рабохозяй-

ственных водоемов, на которых было проведено исследование состава интестинальной микрофлоры кишечника радужной форели, представлены в таблице 1.

Для реализации цели исследования с каждого водоема было отобрано по 5 особей *P. mykiss* в возрасте 1+. Основные

морфометрические параметры обследованных экземпляров форели представлены в таблице 2. На момент исследования масса двухлеток форели находилась в диапазоне от 220 до 294 г, общая длина тела – от 233 до 253 мм, высота тела – от 53 до 57 мм.

Таблица 1 – Основные гидролого-гидрохимические показатели исследуемых рыбохозяйственных водоемов

Параметр	Кондопожская губа	Рауталаhti	Крошнозе-ро	озеро Насоновское
Т воды, °С	17.9	18.4	20.6	19.2
БПК ₅ , мг/л	1.9	1.9	1.8	2.1
рН	6.82	6.89	6.71	6.58
Аммоний-ион, мг/дм ³	0.053	0.051	0.051	0.054
Фосфатный фосфор, мг/дм ³	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Железо, мг/дм ³	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
ГН общая жесткость, °	2-3	2-3	2-3	2-3
кН карбонатная жесткость, °	1	1	1	1

Таблица 2 – Морфометрические показатели исследуемых особей *Parasalmo mykiss*

озеро Насоновское (n = 5)					
масса, кг	АС, мм	AD, мм	L, мм	H, мм	Lr, мм
230±0.01	240±9.4	184±1.6	253±9.5	56.8±1.6	57±9.2
Рауталаhti (n = 5)					
294±0.03	218±5.4	185±1.3	233±4.4	53.8±0.7	33±4.4
Крошнозеро (n = 5)					
275±0.03	231±6.2	181±1.2	247±5.1	54.9±1.2	52±6.3
Кондопожская губа Онежского озера (n = 5)					
220±0.01	206±3.5	173±0.9	233±4.9	52.8±0.6	33±4.1

Примечание: АС – расстояние от начала рыла до конца чешуйчатого покрова, AD – расстояние от жаберной щели до конца чешуйчатого покрова, L – общая длина до выемки хвостового плавника, H – высота тела, Lr = AC-AD

Для изучения состава интестинальной микрофлоры кишечника *Parasalmo mykiss* использованы классические методы анализа бактериофлоры, основанные на выделении чистых культур бактерий из ассоциации с последующим изучением фенотипических свойств выделенных культур. Отбор проб фоновой микрофлоры кишечника выполняли в условиях строгой асептики. Для этого туловище рыбы с левой стороны освобождали от слизи и

чешуи, удаляли брюшной и грудной плавники и фламбировали спиртовым тампоном. Брюшную стенку отсекали стерильными ножницами полулунным разрезом от ануса к жаберной крышке. Затем удаляли кишечник, надрезав его в области псевдодиафрагмы и ануса. С изолированного кишечника отбирали пристеночную микрофлору и помещали в заранее подготовленные стерильные пробирки с забуференной пептонной водой для неселек-

тивного накопления бактерий, в том числе, и сублетально угнетенных энтеробактерий. Полученные накопительные культуры использовали для идентификации по фенотипическим признакам, регламентированным в Определителе бактерий Берджи (1997). В качестве основных фенотипических маркеров использовали принадлежность к определенному морфотипу, тинкториальные и культуральные признаки, а также биохимическую активность (присутствие каталазы, цитохромоксидазы, способность к аммонификации и утилизации сахаров). Для определения каталазы и цитохромоксидазы использовали коммерческие наборы реагентов Микро-Каталаза-НИЦФ и Микро-Цитохромоксидаза-НИЦФ. Для оценки способности энтеробактерий аммонифицировать белки и утилизировать сахара применяли гидролизат рыбной муки и традиционные питательные среды с углеводами и многоатомными спиртами, используемые в микробиологии [Маннапова, 2021].

Для статистической обработки полученных данных по результатам сравнительного анализа интестинальной микрофлоры кишечника исследуемых групп радужной форели применяли составление вариационного ряда, расчет средней величины исследуемого признака и среднюю стандартную ошибку [Ивантер, 1970].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В составе интестинальной микрофлоры кишечника исследуемых экземпляров форели обнаружено 14 функциональных групп бактерий. Это целлюлозолитики, бациллы, лактобациллы, бифидобактерии, селеномонады, актинобактерии, энтеробактерии, фузобактерии, пептококки, стафилококки, кампилобактерии, патогенные клостридии, пастереллы и псевдомонады. Доля целлюлозолитиков (Eubacteriaceae, Clostridiaceae, Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Bacteroidetes и т.д.) изменялась от 49.1 до 55.3%; бацилл – от 0.9 до 8.7%, лактобацилл – от 5 до 13.7%. Бифидобактерии присутствовали только в составе микрофлоры форели из рыбоводных хозяйств, расположенных на

акватории Кондопожской губы Онежского озера и залива Рауталаhti – 0.2-0.3%. Доля селеномонад изменялась от 8.5 до 17.4%. На долю условно-патогенной и патогенной микрофлоры в сообществе, в среднем приходилось от 0.12% (энтеробактерии, оз. Насоновское) до 7.4% (актинобактерии, Кондопожская губа Онежского озера).

Для форели из оз. Насоновского отмечено наиболее низкое содержание представителей нормальной микрофлоры в виде бактерий-целлюлозолитиков (руминококков, зубактерий, бактероидов, клостридий и т.д.) и бацилл. При этом, доля селеномонад в данном образце была наибольшей. В образце из данной группы отмечено также и наибольшее содержание условно-патогенных актинобактерий, энтеробактерий, патогенных пептококков. Также установлено присутствие патогенных фузобактерий, кампилобактерий, патогенных клостридий и пастерелл.

Для форели из залива Рауталаhti Ладонского озера отмечено высокое содержание представителей нормофлоры, наибольшее содержание лактобацилл среди остальных опытных образцов, высокая доля селеномонад. В составе интестинальной бактериофлоры обнаружено присутствие представителей условно патогенных актинобактерий, энтеробактерий и патогенных фузобактерий, пептококков, наивысшая доля присутствия патогенных кампилобактерий среди остальных групп. Для форели, отобранной из рыбоводного хозяйства, расположенного в акватории Крошнозеро было также выявлено высокое содержание представителей нормофлоры в кишечнике, наибольшая доля присутствия бацилл и наименьшая доля лактобацилл среди остальных исследуемых экземпляров форели. Необходимо отметить, что для данной группы рыб характерна наименьшая доля присутствия условно-патогенных актинобактерий, но при этом наибольшая доля патогенных фузобактерий и стафилококков среди исследованных образцов. Также было отмечено присутствие условно-патогенных энтеробактерий и патогенных

кампилобактерий. Для форели, отобранной из рыбоводного хозяйства, расположенного в акватории Кондопожской губы Онежского озера отмечено высокое содержание представителей нормофлоры, наибольшая доля присутствия бактерий-целлюлозолитейков и наименьшая доля селеномонад среди остальных исследуемых образцов кишечной бактериофлоры. Также в данном образце отмечена наименьшая доля присутствия условно-патогенных энтеробактерий, установлено наличие условно-патогенных актинобактерий, патогенных фузобактерий, пептококков, стафилококков, кампилобактерий и пастерелл. Также в исследованных образцах было отмечено присутствие некультивируемой микрофлоры. Данные микроорганизмы невозможно выявить и изучить с помощью традиционных методов микробиологии - культивирования на питательных средах. Их роль в пищеваре-

нии рыб также пока неизвестна. Кроме того, анализ полученных данных показал, что у всех исследуемых рыб в кишечнике присутствовала транзитная микрофлора в виде псевдомонад. Данные микроорганизмы поступают в желудочно-кишечный тракт с кормом и водой и в случае нарушения анатомофизиологического барьера или адаптогенных свойств организма могут провоцировать развитие условно-патогенных инфекций с переходом в эпизоотии.

В исследуемых группах были проанализированы микробиомы пилоритических придатков форели. Результаты представлены в таблице 3 и на диаграмме идентифицированных таксонов (рис. 2). Анатомическое расположение пилорических придатков и интестинальной части кишечника изображено на фотографии (рис. 1).



Рисунок 1 – Анатомические особенности пищеварительного тракта радужной форели (истм. <https://ya.ru/images/search>).

Для группы форели из Кондопожской губы Онежского озера отмечено наименьшее содержание таких представителей нормофлоры, как бактерии-целлюлозолитики (руминококки, зубактерии, бактероиды, клостридии и т.д.) и бациллы среди остальных исследованных образцов. Также в данном образце отмечено низкое, относительно остальных проб, содержание лактобацилл. При этом в данном образце было отмечено высокое содержание селеномонад, наивысшее со-

держание бифидобактерий. Также в данном образце отмечено присутствие условно-патогенной и патогенной микрофлоры. Содержание условно-патогенных энтеробактерий, патогенных фузобактерий, пептококков и стафилококков было наиболее высоким среди остальных образцов. Также отмечено присутствие условно-патогенных актинобактерий, патогенных кампилобактерий и пастерелл.

Таблица 3 – Содержание микроорганизмов в пилорических придатках исследуемых групп радужной форели, %

Микроорганизмы	Роль микроорганизма	Рыбоводные хозяйства			
		Кондо- пожская губа	Раута- лахти	Крош- нозеро	озеро Насо- новское
Нормофлора					
Целлюлозолитики (сем. <i>Eubacteriaceae</i> , <i>Clostridiaceae</i> , <i>Lachno- spiraceae</i> , <i>Ruminococcaceae</i> , <i>Bacteroidetes</i> u m.д.)	«Полезные» микроор- ганизмы, расщепляю- щие растительную клетчатку и некрахма- листые полисахариды углеводы кормов	55,86	64,93	64,31	56,03
Бациллы (<i>Bacillus</i> sp.)	«Полезные» микроор- ганизмы, обладающие антимикробной актив- ностью в отношении патогенов и др. полез- ными свойствами	1,54	1,97	2,03	2,43
Лактобациллы (<i>Lactobacillus</i> sp.)	«Полезные» микроор- ганизмы, обладающие антимикробной актив- ностью в отношении патогенных микроор- ганизмов	3,44	4,43	3,01	9,37
Бифидобактерии (сем. <i>Bifidobacteriaceae</i>)		0,12	0	0	0,08
Селеномонады (<i>Selenomonas</i> sp., <i>Veillonella</i> sp)	Разлагают органические кислоты	10,55	7,91	8,27	11,57
Условно-патогенная микрофлора					
Актинобактерии (<i>Microbacterium</i> sp., <i>Arthrobacter</i> sp.)	Возбудители актиномикозов	3,15	6,29	6,24	2,87
Энтеробактерии (сем. <i>Enterobacteri- aceae</i>)	Возбудители гастроэнтеритов	2,97	1,54	0,55	1,89
Патогенная микрофлора					
Фузобактерии (<i>Fusobacterium</i> sp.)	Возбудители различ- ных инфекционных заболеваний	3,38	0,09	0,42	1,59
Пептококки (сем. <i>Peptococcaceae</i>)		1,36	1,26	0,86	0,46
Стафилококки (<i>Staphylococcus</i> sp.)		0,29	0,04	0,05	0,5
Кампилобактерии (сем. <i>Campylobacteri- aceae</i>)		1,82	2,54	4,42	4,06
Патогенные клостри- дии <i>C. perfringens</i> , <i>C. noviy</i>		0	0,37	0,13	0
Пастереллы (сем. <i>Pasterellaceae</i>)		0,18	0,05	0,25	0,59
Некультивируемая и транзитная микрофлора					
Псевдомонады (сем. <i>Pseudomona- daceae</i>)	Микроорганизмы, поступающие с кор- мом	2,98	0,33	2,5	1,94
Некультивируемые бактерии	Роль не ясна	12,36	8,25	6,96	6,62

Для группы форели, разводимой в акватории залива Рауталаhti Ладожское озеро было отмечено более высокое содержание представителей нормальной микрофлоры. Отмечена наибольшая доля целлюлозолитических микроорганизмов, содержание бацилл, лактобацилл, селеномонад. Примечательно, что в данной группе содержится самая низкая доля условно-патогенных актинобактерий, в то время как в других группах содержание актинобактерий было наивысшим. Также в исследованных образцах опытных групп отмечено присутствие условно-патогенных энтеробактерий, патогенных фузобактерий, пептококков, стафилококков, кампилобактерий, патогенных клостридий и пастерелл. Важно отметить, что во всех исследованных образцах кишечника отмечена высокая доля патогенных кампилобактерий - до 4,42%. Также в исследованных образцах было отмечено присутствие некультивируемой микрофлоры. Данные микроорганизмы невозможно выявить и изучить с помощью традиционных методов микробиологии - культивирования на питательных средах. Их роль в пищеварении также пока неизвестна. Кроме того, анализ полученных данных показал, что у всех исследуемых рыб в кишечнике присутствовала транзитная микрофлора в виде псевдомонад.

Анализ микрофлоры пилорических придатков исследуемых групп радужной форели показал существенные различия.

Для группы форели из Кондопожской губы Онежского озера отмечено наиболее низкое содержание представителей нормальной микрофлоры в лице бактерий-целлюлозолитиков (руминококков, эубактерий, бактериоидов, клостридий и т.д.) и бацилл среди остальных исследованных образцов опыта. При этом, доля селеномонад в данном образце была наивысшей среди остальных проб. Вместе с тем в образце из данной группы отмечено наибольшее содержание условно-патогенных актинобактерий, энтеробактерий, патогенных пептококков. Также установлено присутствие патогенных фузобактерий, кампилобактерий, патоген-

ных клостридий и пастерелл.

Для группы форели, разводимой в акватории залива Рауталаhti /Ладожское озеро отмечено высокое содержание представителей нормофлоры, наибольшее содержание лактобацилл среди остальных опытных образцов, высокая доля селеномонад. В данном образце также отмечено присутствие представителей условно-патогенных актинобактерий, энтеробактерий и патогенных фузобактерий, пептококков, наивысшая доля присутствия патогенных кампилобактерий среди остальных групп.

Микрофлора форели, разводимой в акватории Крошнозеро состояла из высокого содержания представителей нормофлоры, наибольшая доля присутствия бацилл и наименьшая доля лактобацилл среди остальных опытных образцов. В данном образце отмечена наименьшая доля присутствия условно-патогенных актинобактерий, но при этом наибольшая доля патогенных фузобактерий и стафилококков среди исследованных образцов. Также было отмечено присутствие условно-патогенных энтеробактерий и патогенных кампилобактерий.

Для группы форели, разводимой в акватории Насоновского озера отмечено высокое содержание представителей нормофлоры, наибольшая доля присутствия бактерий-целлюлозолитиков и наименьшая доля селеномонад среди остальных опытных образцов. Также в данном образце отмечена наименьшая доля присутствия условно-патогенных энтеробактерий, установлено наличие условно-патогенных актинобактерий, патогенных фузобактерий, пептококков, стафилококков, кампилобактерий и пастерелл.

Также в исследованных образцах было отмечено присутствие некультивируемой микрофлоры. Данные микроорганизмы невозможно выявить и изучить с помощью традиционных методов микробиологии - культивирования на питательных средах. Их роль в пищеварении рыб также пока неизвестна.

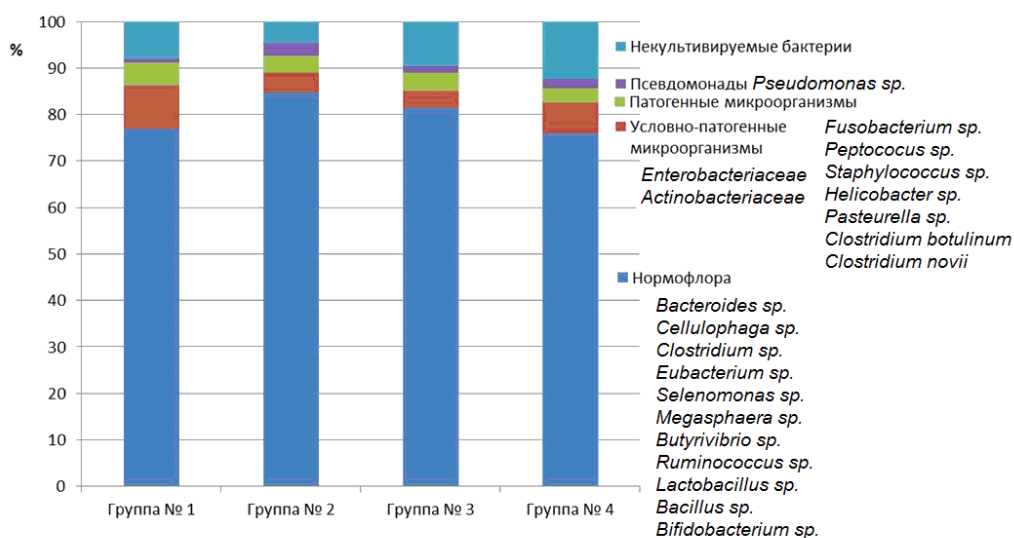


Рисунок 2 – Представленность основных групп микроорганизмов в слепых отростках форели.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате выполненного исследования проанализирован состав микрофлоры кишечника у 20 особей радужной форели в возрасте 1+, отобранной из 4 рыбководных хозяйств РК, территориально расположенных в бассейне Кондопожской губы Онежского озера, залива Рауталаhti Ладожского озера, Крошнозеро и Озера Насоновского. Благодаря анализу литературы, посвященной особенностям микробиома кишечника *P. mykiss* в зависимости от условий окружающей среды подтверждена актуальность выполненных исследований. Для анализа интестинальной микрофлоры кишечника и пилорических придатков исследуемых групп радужной форели использован комплексный подход, основанный на микробиологическом анализе совокупности фенотипических признаков исследуемой бактериофлоры.

Микробиологический анализ показал, что качественная и количественная изменчивость микробиома кишечника отличается в зависимости от среды выращивания форели. Выделены 14 функциональных групп бактерий: целлюлозолити-

ки, бациллы, лактобациллы, бифидобактерии, селеномонады, актинобактерии, энтеробактерии, фузобактерии, пептококки, стафилококки, кампилобактерии, патогенные клостридии, пастереллы и псевдомонады. Доля целлюлозолитиков (*Eubacteriaceae*, *Clostridiaceae*, *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Bacteroidetes* и т.д.) изменялась от 49.1 до 55.3%; бацилл – от 0.9 до 8.7%, лактобацилл – от 5 до 13.7%.

В результате изучения микробиома кишечника форели и пилорических придатков, для всех исследованных групп описаны Bacteria: Actinobacteria, Bacillota, Proteobacteria. Идентифицированы представители 23 родов с преобладанием в составе совокупного микробиома желудочно-кишечного тракта нормальной микрофлоры в виде бактерий-целлюлозолитиков (руминококков, зубактерий, бактериоидов, клостридий и т.д.). В группе форели, выращенной в акватории Кондопожской губы Онежского озера отмечено наибольшее содержание условно-патогенных актинобактерий, энтеробактерий, патогенных пептококков.

Также установлено присутствие патогенных фузобактерий, кампилобактерий, патогенных клостридий и пастерелл.

В группе 2, выращенной в акватории залива Рауталахти Ладожского озера отмечено высокое содержание представителей нормофлоры, наибольшее содержание лактобацилл среди остальных опытных образцов, высокая доля селенонад. В данных образцах также отмечено присутствие представителей условно патогенных актинобактерий, энтеробактерий и патогенных фузобактерий, пептококков, наивысшая доля присутствия патогенных кампилобактерий среди остальных групп.

В группах 3 (Крошнозеро) и 4 (озеро Насоновское) отмечено высокое содержание представителей нормофлоры, наибольшая доля присутствия бацилл и наименьшая доля лактобацилл среди остальных опытных образцов кишечника.

Полученные данные необходимы, как для обоснования и широкого применения разнообразных методов исследования в практике пространственного и временного мониторинга за физиологическим состоянием объектов аквакультуры, так и для формирования объективной научной базы с целью установления причинно-следственных закономерностей трансформации микробиома кишечника рыб при заданных внутриводоемных условиях регионального значения.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE INTESTINAL MICROFLORA OF RAINBOW TROUT, SELECTED FROM VARIOUS FISH HERRY FARMS IN THE REPUBLIC OF KARELIA

Sidorova N.A.¹ – Cand.biol.sc.; Karpenko L.Yu.² – D. Biol.sc., Professor, Bakhta A.A.² – Cand.biol.sc., Assoc.; Savushkin A.I.¹ – Research Associate; Nikonov I.N.² – Cand.biol.sc.

¹ Petrozavodsk State University

² St. Petersburg State University of Veterinary Medicine.

ABSTRACT

The microbiocenosis of the intestines of fish is represented by the abdominal and parietal microflora, which has complex func-

tional connections with each other and with the intestinal wall. The purpose of the study was to identify the features of the biodiversity of the intestinal microflora of rainbow trout grown in fish farms in Karelia. The study of intestinal microflora of rainbow trout was carried out on the basis of fish farms of the Republic of Kazakhstan, geographically located in the water area of 4 reservoirs, characterized by a complex of hydrological, hydrochemical and hydrobiological characteristics. These are the Kondopoga Bay of Lake Onega, the Rautalakhti Bay of Lake Ladoga, Kroshnozero and Lake Nasonovskoye. For statistical processing of the data obtained based on the results of a comparative analysis of the intestinal microflora of the studied groups of rainbow trout, the compilation of a variation series, the calculation of the average value of the studied trait and the average standard error were used. The object of the study to study the composition of intestinal microflora was the rainbow trout *Parasalmo mykiss* (Walbaum, 1792) of the Rofor breed. Microbiological analysis has shown that the qualitative and quantitative variability of the gut microbiome differs depending on the trout growing environment. 14 functional groups of bacteria were identified: cellulolytics, bacilli, lactobacilli, bifidobacteria, selenomonas, actinobacteria, enterobacteria, fusobacteria, peptococci, staphylococci, campylobacteria, pathogenic clostridia, pasteurella and pseudomonas. The proportion of cellulolytics (Eubacteriaceae, Clostridiaceae, Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Bacteroidetes, etc.) varied from 49.1 to 55.3%; bacilli – from 0.9 to 8.7%, lactobacilli – from 5.0 to 13.7%.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Артамонова В.С., Махров А. А. Популяционная структура семги (*Salmo salar* L.) и ее изменение под влиянием рыбодоводства // Ихтиофауна малых рек и озер Восточного Мурмана: биология, экология, ресурсы. Апатиты: КНЦ РАН, 2005. С. 144–157.

2. Ивантер Э. В. Основы вариационной статистики. Петрозаводск: Петрозавод-

- ский государственный университет имени О. В. Куусинена, 1970. 18 с.
3. Маннапова Р. Т. Микробиология. Практикум для выполнения лабораторно-практических работ. М.: Проспект, 2021. 440 с.
4. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулта. М.: Мир, 1997. 444 с.
5. Руководство по ветеринарно-санитарному контролю племенных рыбозаводных хозяйств: науч.-практ. изд. 2018. М.: Изд-во ФГБНУ «Росинформагротех», 52 с.
6. Huber I., Spanggaard B., Appel K. F., Rossen L., Nielsen T., Gram L. J. Phylogenetic analysis and in situ identification of the intestinal microbial community of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) // *Appl. Microbiol.* 2004. № 96(1):117-32. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.02109. x.
7. Parshukov A.N., Kashinskaya E.N., Simonov E.P., Hlunov O.V., Izvekova G.I., Andree K.B., Solovyev M.M. Variations of the intestinal gut microbiota of farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), depending on the infection status of the fish // *Journal of Applied Microbiology.* 2019, V.127, Issue 2. P. 379–395.
8. Pelusio N. F. et al. Effects of increasing dietary level of organic acids and nature-identical compounds on growth, intestinal cytokine gene expression and gut microbiota of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at normal and high temperature // *Fish & shellfish immunology.* 2020. V. 107. Pt A. P. 324-335.
9. Pond M. J., Stone D. M., Alderman D. J. Comparison of conventional and molecular techniques to investigate the intestinal microflora of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Aquaculture.* 2006. № 261 (1). P. 194-203.
10. Sehnal L., Brammer-Robbins E., Wonnington A. M., Blaha L., Bisesi J., Larkin I., Martyniuk C. J., Simonin M., Adamovsky O. Microbiome composition and function in aquatic vertebrates: small organisms making big impacts on aquatic animal health // *Frontiers in microbiology.* 2021. № 12. Article number 567408. DOI: 10.3389/fmicb.2021.567408.
11. Spanggaard B., Huber I., Nielsen J., Nielsen T. The microflora of rainbow trout intestine: A comparison of traditional and molecular identification // *Aquaculture.* 2000. № 182(1-2). P. 1-15.
12. Vasemagi A., Visse M., Kisand V. Effect of environmental factors and an emerging parasitic disease on gut microbiome of wild salmonid fish // *M Sphere.* 2017. № 2 (6). Article number e00418-17. DOI: 10.1128/mSphere.00418-17.
13. Zhou C., Yang S., Ka W., et al. Association of Gut Microbiota with Metabolism in Rainbow Trout Under Acute Heat Stress // *Frontiers in Microbiology.* 2022. № 13. P. 846-856.

REFERENCES

1. Artamonova V.S., Makhrov A. A. The population structure of salmon (*Salmo salar* L.) and its change under the influence of fish farming // *Ichthyofauna of small rivers and lakes of Eastern Murmansk: biology, ecology, resources.* Apatity: KSC RAS, 2005. pp. 144-157.
2. Ivanter E. V. Fundamentals of variational statistics. Petrozavodsk: Petrozavodsk State University named after O. V. Kuusinen, 1970. 18 p.
3. Mannapova R. T. Microbiology. A workshop for performing laboratory and practical work. M.: Prospect, 2021. 440 p.
4. The determinant of Bergey bacteria / Edited by J. Hoult. M.: Mir, 1997. 444 p.
5. Guidelines for veterinary and sanitary control of breeding fish farms: scientific and practical ed. 2018. Moscow: Publishing House of the Federal State Budgetary Budgetary Institution "Rosinformagrotech", 52 p.
6. Huber I., Spanggaard B., Appel K. F., Rossen L., Nielsen T., Gram L. J. Phylogenetic analysis and in situ identification of the intestinal microbial community of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) // *Appl. Microbiol.* 2004. № 96(1):117-32. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.02109. x.
7. Parshukov A.N., Kashinskaya E.N., Simonov E.P., Hlunov O.V., Izvekova G.I., Andree K.B., Solovyev M.M. Variations of the intestinal gut microbiota of farmed rain-

- bow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), depending on the infection status of the fish // *Journal of Applied Microbiology*. 2019, V.127, Issue 2. pp. 379-395.
8. Pelusio N. F. et al. Effects of increasing dietary level of organic acids and nature-identical compounds on growth, intestinal cytokine gene expression and gut microbiota of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at normal and high temperature // *Fish & shellfish immunology*. 2020. V. 107. Pt A. R. 324-335.
9. Pond M. J., Stone D. M., Alderman D. J. Comparison of conventional and molecular techniques to investigate the intestinal microflora of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Aquaculture*. 2006. No. 261 (1). pp. 194-203.
10. Sehnal L., Brammer-Robbins E., Wonnington A. M., Blaha L., Bisesi J., Larkin I., Martyniuk C. J., Simonin M., Adamovsky O. Microbiome composition and function in aquatic vertebrates: small organisms making big impacts on aquatic animal health // *Frontiers in microbiology*. 2021. № 12. Article number 567408. DOI: 10.3389/fmicb.2021.567408.
11. Spanggaard B., Huber I., Nielsen J., Nielsen T. The microflora of rainbow trout intestine: A comparison of traditional and molecular identification // *Aquaculture*. 2000. No. 182(1-2). pp. 1-15.
12. Vasemagi A., Visse M., Kisand V. Effect of environmental factors and an emerging parasitic disease on gut microbiome of wild salmonid fish // *M Sphere*. 2017. № 2 (6). Article number e00418-17. DOI: 10.1128/mSphere.00418-17.
13. Zhou C., Yang S., Ka W., et al. Association of Gut Microbiota with Metabolism in Rainbow Trout Under Acute Heat Stress // *Frontiers in Microbiology*. 2022. No. 13. pp. 846-856.