

## Mikroorganizmų vaidmuo lašišų (*Salmo salar* L.) jauniklių mityboje

**Janina Šyvokienė,  
Liongina Mickėnienė,  
Pranė Stasiūnaitė**

*Vilniaus universiteto  
Ekologijos institutas,  
Akademijos g. 2,  
LT-08412 Vilnius*

Nagrinėjamas lašišų (*Salmo salar* L.) lervų endosistemoje besiformuojančios bakteriofloros gausumas ir sudėtis. Bakteriofloros atsiradimas lašišų endosistemoje siejamas su šių organizmų mitybos pradžia. Nustatyta, kad mažėjant trynio kiekiui lašišų lervutėse ir esant palankiai aplinkos temperatūrai bei baseinų vandens kokybei, jos gali pradėti aktyviai maitintis.

Lašišų endosistemoje esanti bakterioflora buvo ištirta skirtingose šių žuvų vystymosi stadijose. Taip pat buvo ištirtos žuvų dietos, baseinų ir Žeimenos upės vandens bakterioflora. Mikrobiologiniams tyrimams buvo homogenizuota 180 lašišų lervų, 9 dietos ir 27 vandens pavyzdžiai.

Išaiškinta, kad blūžnis yra tinkamiausias lašišų lervų maistas. Tai patvirtina lašišų endosistemoje vyraujančių bendrų heterotrofinių bakterijų gausumas. Tačiau nustatyta, kad temperatūros režimo nesilaikymas, bakteriologiškai netinkama vandens ir pašaro kokybė sutrikdo normalios bakteriofloros formavimąsi lašišų lervų endosistemoje.

**Raktažodžiai:** lašišos, lervos, bakterioflora, mityba

### ĮVADAS

Nors per pastaruosius dešimtmečius veisimo technologijos iš esmės patobulėjo, intensyvus įvairių gyvūnų lervų auginimas apibūdinamas masinio žuvimo sąlygojama bloga reprodukcija. Bandymai parodė, kad didesnę mirtingumą gali sukelti neadekvačios mikrobinės sąlygos, tačiau dažnai neišskiriant žinomų patogeninių mikroorganizmų (Muroga et al., 1987). Veisyklose lervos auginamos aplinkoje, kurios bakterioflora kiekybiškai ir kokybiškai skiriasi nuo bakteriofloros gamtoje. Ultravioletiniais spinduliais, filtravimu galima pašalinti daugelį bakterijų iš vandens, kuris bus panaudotas lervoms auginti. Lervučių tankis, gyvas maistas nulemia didelį organinių medžiagų ir bakterijų kiekį baseinuose. Tokios sąlygos sudaro galimybę selekcijai ir dauginimuisi bakterijų, kurių normalus augimas gamtinėmis sąlygomis yra ribotas (Olafsen, 1984; Vadstein et al., 1993). Didelis gausumas oportunistinių – nepalankių bakterijų vandenyje ir lervų žarnyno mikrofloroje gali nulemti žalingus gyvūnų jauniklių ir bakterijų santykius, ypač jei lervas ištinka stresas arba jų imuninė sistema blogai išvystyta (Olafsen, 1984).

Lervų poreikis, turint omenyje bakterinę florą jas supančioje aplinkoje, nežinomas, neištirtas, tačiau mikroflora, susidedanti iš nepatogeninių bakterijų, teoriškai turėtų būti naudinga lervoms. Mokslininkų nuomone (Andrews, Harris, 1986), pirminė žuvų

odos ir žarnyno paviršiaus kolonizacija neoportunistiniais mikroorganizmais gali duoti pradžią komensalinei mikroflorai, kuri gali apsaugoti lervas nuo oportunistinių ir patogeninių mikroorganizmų dauginimosi. Svarbu sustabdyti oportunistinių bakterijų augimą, atrenkant neoportunistines bakterijas vandenyje, kuriame auginamos lervos. Teoriškai ši hipotezė paremta „r/k“ koncepcija (santykis), kuri atskiria oportunistines (r strategų) bakterijas nuo neoportunistinių (k strategų) bakterijų vystantis ekosistemai (Andrews, Harris, 1986). Atviruose vandens telkiniuose, palyginti su akvakultūros sąlygomis, yra stabilėsnė temperatūra, biogeninių elementų kiekis, mažiau maisto medžiagų. Auginti gyvūnus uždaroje erdvėje yra sunkiau. Akvakultūroje aplinka heterogeninė. Fizikiniai, cheminiai, mitybos ir biologiniai rodikliai keičiasi iš esmės intensyvumo atžvilgiu laike ir erdvėje. Vandens bakterijų bendrijas riboja keli kontroliuojantys veiksniai, tokie kaip mitybos šaltiniai, plėšrūnai ir kt. Bakterijų augimo greitis kinta kintant kontroliuojančių veiksnių poveikiui (Roszak, Colwell, 1987). Kita vertus, bakterijų ląstelės kintant augimo sąlygoms dėl didelės genotipų ir fenotipų mechanizmų įvairovės ir skirtingos strategijos atsparios aplinkos veiksniams (Morita, 1982).

Oportunistinės bakterijos, keisdamos ląstelės fiziologiją ir morfologiją, gali išlikti esant mažiau tinkamoms sąlygoms. Jos gali lėtai augti arba visai neaugti vandens sluoksnyje, bet gali pradėti sparčiai

daugintis atsiradus maisto medžiagų, pvz., hidrobiontų žarnyne. Buvo aprašyti kai kurių žuvų patogeninių bakterijų spartus dauginimasis žuvų žarnyne ir lėtas dauginimasis vandenyje (Enger et al., 1990). Intensyvios akvakultūros sąlygomis žuvų ikrus ir lervas dažniausiai veikia įvairūs veiksniai viršutiniuose vandens sluoksniuose.

Normali mikroflora vaidina svarbų vaidmenį formuojantis atsparumui ligoms, apsaugo nuo pavojingų bakterijų vystymosi (Tannock, 1983; 1999; Ringø, 1996). Patogeninės bakterijos sėkmingai apsigyvena besiliesdamos su lervų gleivine kol dar nesusiformavusi normali mikroflora. Labai svarbu ir turi lemiamą reikšmę kuo spartesnis naudingos bakteriofloros susiformavimas. Pakitus apsauginei mikrofloros sudėčiai dėl stresinių aplinkos sąlygų ar vartojant antibiotikus, gali atsirasti patogenų (Hansen et al., 1992b). Šeiminingo ir potencialių patogenų barjerai dažnai pažeidžiami nepaisant mitybos reikalavimų ir esant dideliame gyvūnų tankiui.

Subalansuotos mikrofloros susiformavimas hidrobiontų virškinamajame trakte yra kompleksinis procesas, kuriam turi įtakos ikrių, gyvo maisto ir juos supančio vandens mikroflora. Ką tik išsiritusių hidrobiontų žarnyne randama labai nedaug bakterijų, jų itin pagausėja per pirmąsias gyvenimo dienas. Mikroorganizmai, kurie apsigyvena hidrobiontų virškinamajame trakte, yra specializuoti išlikti ir daugintis jame. Tačiau mikrofloros gausumas ir sudėtis kinta priklausomai nuo hidrobionto rūšies ir vystymosi stadijos (Towner, 1995).

Hidrobiontų virškinamojo trakto mikrobiologiniai tyrimai plačiai vykdomi Lietuvoje (Шивокене, 1973; 1989a; 1989b; Облигатный..., 1989; Тряпшине, 1974; Мицкене, 1992; Skrodenytė, 1997; Янкаускене, 1996). Ištyrus gyvūnų virškinimo proceso mechanizmus, pastaruoju metu kreipiamas ypatingas dėmesys į bakterinį virškinimą (Уголев, Кузмина, 1993). Gerai žinoma, kad akvakultūroje mikroorganizmų negalima išvengti (Ringø, Birkbeck, 1999). Žuvų odoje, žiaunose ir virškinamajame trakte gyvena mikroorganizmai, specialiai prisitaikę gyventi glaudžiai liedsdamiesi su šiais paviršiais. Autorių nuomone, subalansuotos žarnyno floros žuvų lervose išsivystymas yra komplikuoatas ir veikiamas gyvo pašaro ir rezervuaro vandens bakterijų. Duomenų apie žuvų jauniklių virškinamojo trakto mikrofloros formavimąsi yra daug (Blanch et al., 1997; Cahill, 1990; Ringø, Birkbeck, 1999; Nicolas et al., 1989). Sidabrinio karoso virškinamojo trakto mikroflora ištirta skirtingose šios žuvies vystymosi stadijose (Sugita et al., 1988). Ištirta šlakių (*Salmo trutta trutta* L.) ir su jų virškinamuoju traktu asocijuotų mikroorganizmų sąveika (Švykienė ir kt., 1997). Autorių duomenimis, šlakių virškinamojo trakto turinyje bakterijų gausumas kito

nuo  $1,0 \times 10^3$  iki  $22 \times 10^5$  bakterinių ląstelių  $g^{-1}$ . Ištirtas laisvai gyvenančių šlakių ir akvakultūros sąlygomis auginamų vaivorykštinių upėtakių virškinamasis traktas (Gonzalez et al., 1999). Nustatyta, kad šlakių virškinamajame trakte bakterijų gausiau nei vaivorykštinių upėtakių virškinamajame trakte. Autorių nuomone, tai nulėmė skirtingos mitybos sąlygos ir akvakultūros sąlygomis naudojami antimikrobiniai preparatai. *Aeromonas* ir *Carnobacterium* vyravo šlakių virškinamojo trakto bakteriocenozeje, tuo tarpu vaivorykštinių upėtakių virškinamojo trakto bakteriocenozeje dažniau aptinkamos *Corynebacterium* genčių bakterijos. Mokslininkų duomenimis, mikroorganizmų išsivystymas šlakių žarnyne siejamas su makroorganizmų mitybos pradžia. Nustatyta, kad mažėjant trynio kiekiui šlakių lervose, esant palankiai aplinkos temperatūrai ir atsirandančiam bakteriniam virškinimui, organizmui susidaro galimybė aktyviai maitintis (Tanasomwang, Muroga, 1988). Manoma, kad išsiritusių lervų žarnyne yra vos keletas bakterijų, bet žarnynas kolonizuojamas per kelias pirmąsias dienas. Kai kurie mikroorganizmai yra normalūs (autochtoniniai), o kiti traktuojami kaip alochtoniniai ir gali sukelti ligas.

Kiti autoriai (Spaunggaard et al., 2000) ištyrė vaivorykštinių upėtakių virškinamojo trakto mikroflorą dviem metodais: nustatė bakterijų gausumą mikroskopuodami virškinamojo trakto turinio tepinėlius ir augindami bakterijas ant terpių. Išaiškinta, kad daugiau nei 50% mikrofloros gali išaugti ant terpių. Bakterijų gausumas upėtakių virškinamajame trakte labai kinta ( $\log 3-5 g^{-1}$ ) priklausomai nuo jų sugavimo vietos ir laiko. Rūšinė mikrofloros sudėtis nustatyta naudojantis klasikiniais metodais ir 16S rRNA genų sekvenacijos metodu. Ištyrus abiem metodais, bakterijų taksonominė priklausomybė buvo labai panaši. Vyravo bakterijos, priklausančios *gamma* subklasei *Proteobacteria*, gentims *Citrobacter*, *Aeromonas* ir *Pseudomonas*. Tačiau mikrofloros kokybinė sudėtis žuvų virškinamajame trakte skyrėsi priklausomai nuo žuvininkystės fermos ir ėmimo laiko tose pačiose fermose.

Lašišinių žuvų mikroflorą, tiek jauniklių, tiek suaugusių žuvų, tyrė keletas autorių (Yoshimizu et al., 1976b; Yoshimizu et al., 1976a; Nieto et al., 1984; Austin, Al-Zahrani, 1998). Jūrinių ir gėlavandenių žuvų virškinamojo trakto mikroflora skirtinga (Munro et al., 1993; Yoshimizu et al., 1976b; Yoshimizu et al., 1976a). Autorių duomenimis, gėlavandenių lašišinių žuvų virškinamajame trakte vyrauja *Aeromonas* genties, taip pat aptinkamos *Flavobacterium* ir *Pseudomonas* genčių bei *Enterobacteriaceae* šeimos bakterijos. Yra duomenų, kad besivystantys ikreliai praktiškai maitinasi endogeniškai (Тимейко, Новиков, 1987), o 71 dienos lervose įvyko trynio rezorbcija ir jų mityba bu-

vo visiškai egzogeninė (Тимейко, Новиков, 1984). Ypač atsakingas jaunikių lašišų gyvenimo momentas yra jų perėjimas prie aktyvios mitybos. Šiuo laikotarpiu labai svarbu žinoti jaunikių virškinimo sistemą ir jos formavimosi pokyčius (Кузинский, 1987).

Darbo tikslas – nustatyti lašišų jaunikių bakterinio virškinimo formavimosi ypatumus.

## MEDŽIAGOS IR METODAI

Bandymai buvo atliekami Žeimenos žuvivaisos įmonėje panaudojant laisvus lašišos (*Salmo salar* L.) embrionus, lervas ir mailių. Mikrobiologiniams tyrimams žuvis buvo suskirstytos į grupes po 5–20 žuvų, atsižvelgiant į jų dydį. Tik išsiritusios žuvų lervos yra per mažos, kad būtų galima išpreparuoti žarnyną. Taigi aerobinė bakterioflora iš žarnyno išskiriama pašalinant lervų paviršiaus mikroflorą, o visa kita išskirta mikroflora laikoma žarnyno. Įvairūs metodai buvo taikomi mikroflorai nuo lervų paviršiaus pašalinti. Pavyzdžiui, Campbell ir Buswell (1983) patalpindavo 7–10 lervų mėgintuvėlyje steriliu destiliuotu vandeniu ir sumaišydavo. Mėgintuvėlio turiniui buvo leidžiama nusėsti prieš nupilant vandenį į kitą mėgintuvėlį. Vėliau Muroga ir kt. (1987) nustatė, kad nuo 1 min. dezinfekuojančiame skystyje laikytų ir 30 sek. bėgančiu čiaupo vandeniu plautų lervų paviršiaus efektyviai pašalinamos bakterijos be jokio pastebimo poveikio vidinėms bakterijoms. Šį metodą plačiai taikė Bergh et al. (1994) ir šiek tiek patobulino. Anot autorių, 5–10 gyvų lervų buvo nuplaunamos 3 kartus autoklavuotame jūros vandenyje, lervų paviršius 3 min. buvo dezinfekuojamas, vėl 3 kartus perplautos autoklavuotame 25% jūros vandenyje ir kartu homogenizuotos 5 ml 25% steriliame jūros vandenyje.

Mūsų metodu visos 10 dienų žuvis, jų paviršių nusterilinus, buvo homogenizuotos. Vyresnės žuvis išskrostos, steriliai išėmus žarnyną, jo turinys išspaus-tas, sumaišytas, pasvertas ir sudėtas į mėgintuvėlius. Į juos įpilta tiek skiediklio, kad atsiskiestų  $10^{-1}$ , sumaišyta ir atskiesta iki  $10^{-3}$ . Kiekvienas mėginys pasėtas skirtingose terpėse: mėsos–peptono, pieno, krakmolo, Čapeko ir Rider agaruose, naudojantis J. Segi (Сегі, 1983), V. Romanenko (Романенко, 1985), S. Kuznecovo ir G. Dubininos (Кузнецов, Дубинина, 1989) metodikomis. Vandens ir pašarų mikrobiologiniai tyrimai buvo vykdomi naudojantis anksčiau minėtomis metodikomis. Užsėti mėginiai buvo inkubuojami 22°C temperatūroje 5–7 dienas, suskaičiuotos bakterijų kolonijos kiekvienoje lėkštelėje ir jų kiekis perskaičiuotas 1 g homogenizuotos žuvų lervų masės ir virškinamojo trakto turinio, 1 ml vandens ir 1 g pašarų. Darbo laikotarpiu išanalizuota 180 lašišos jaunikių. Bakteriologinė vandens kon-

trolė buvo atliekama lašišų jaunikių augimo ir formavimosi eigoje.

## REZULTATAI IR DISKUSIJA

Kai kalbama apie žarnyno bakterijų kilmę ir apsigyvėnimą žarnyne, turi būti nagrinėjami paties žarnyno formavimosi veiksniai. Gerai ištirta ir įrodyta, kad skirtingų rūšių žuvų virškinamojo trakto morfologija skiriasi: suaugusių žuvų ir pradinėse jų vystymosi stadijose. Taigi virškinamojo trakto struktūra nulemia žarnyno mikrofloros sudėtį. Išsiritant virškinamasis traktas daugumos rūšių žuvų yra nediferencijuotas, tiesus vamzdelis, kuris morfologiškai, histologiškai ir fiziologiškai mažiau išsivystęs nei suaugusių žuvų virškinamasis traktas (Govoni et al., 1986). Žuvims išsiritus, kada žarnynas yra paprastas nediferencijuotas vamzdelis, jis vystosi į plotį, ilgį, kinta ir jo struktūra. Šis laipsniškas vystymasis svarbus aptarinėjant skirtingų žuvų virškinamojo trakto mikroflorą.

Iš esmės sutariama, kad kai kurių jūrinių rūšių žuvų lervų virškinamasis traktas jų išsiritimo momentu turi keletą bakterijų (Muroga et al., 1987; Tanasomwang, Muroga, 1988; Hansen et al., 1992a; Munro et al., 1994; Skjermo, Vadstein, 1993; Roszak, Colwell, 1987; Sakata, 1990; Strøm, Ringø, 1993; Munro, 1993; Ringø, Vadstein, 1998). Virškinamajame trakte bakterijos turi gauti gatavas maisto medžiagas: dalinai apvirškintų mitybos komponentų ar sekrecijos medžiagų, gleivių, kurios pastoviai išskiriamos žuvų virškinamajame trakte (Fänge, Grove, 1979). Bakterijas, apsigyvenusias virškinamajame trakte, veikia bakterijų tarpusavio sąveika, todėl atsipalaiduoja maisto medžiagos, kurias naudoja kitos bakterijos.

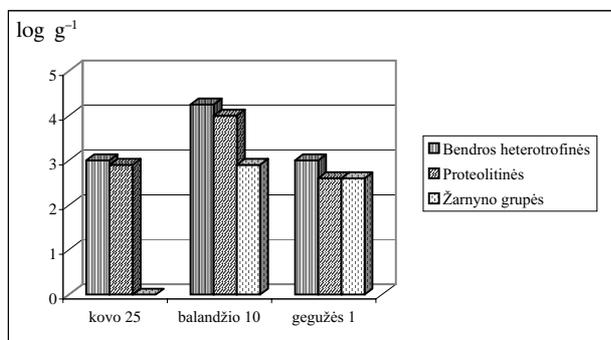
Daugumai vandens bakterijų žuvų virškinamasis traktas yra turtingesnė terpė augti ir vystytis. Dauguma vandenyje lėtai besidauginančių arba visai nesidauginančių bakterijų, patekusios su maistu į žuvų virškinamąjį traktą, pradeda intensyviai daugintis. Todėl lašišų auginimo biotechnologijoje labai svarbūs bakteriologiniai vandens ir lašišų besiformuojančios virškinimo sistemos mikrobiologiniai tyrimai. Patekusi į besiformuojantį lašišos jaunikių virškinamąjį traktą, atsitiktinė mikroflora gali sukelti neigiamų bakterinio virškinimo formavimosi padarinių.

**Vandens mikroflora.** Daugelyje inkubacijos sistemų tiekiamas vanduo yra valomas, siekiant sumažinti oportunistinių mikroorganizmų populiacijas. Filtravimas per filtrus, kurių poros nuo 0,1 iki 10 μm, ultravioletinė spinduliuotė, cheminė dezinfekcija ar profilaktikai vartojami antibiotikai labai pergrupuoja ir destabilizuoja bakterijų bendriją vandenyje. Apdorotame vandenyje beveik neliks bakterijų, bus maža rūšių konkurencija ir labai tinkamos sąlygos oportunistinėms bakterijoms. Oportunistinės bakterijos,

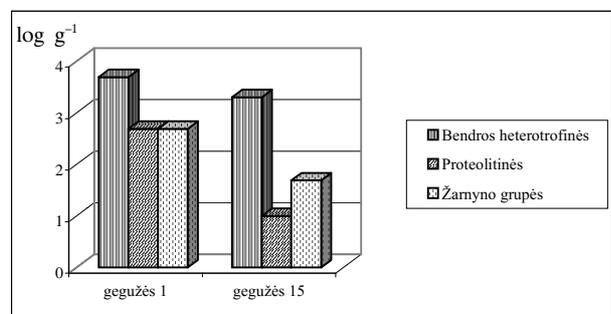
pasiformuojančios dideliu augimo greičiu, šiomis sąlygomis yra privilegijuotos (Vadstein et al., 1993). Pirmo maitinimo metu vanduo baseinuose periodiškai gauna daug bakterijų ir organinių medžiagų su gyvu maistu ir mikrodumbliais.

Išsiritusių gyvūnų mirtingumas paprastai būna didelis, nepaisant taikomų vandens valymo metodų. Tai susiję su bakterijų bendrijos baseinuose pažeidimu, todėl sumažėja mikroorganizmų įvairovė, o pagausėja oportunistinių bakterijų. Daugumos oportunistinių bakterijų ir *Vibrio*, ir *Pseudomonas* genčių augimo greitis didžiausias, jos pradeda vyrėti per trumpą laiką esant mažai konkurencijai ir pakankamai maisto medžiagų. Ankstyvose gyvūnų vystymosi stadijose daug, bet neįvairių oportunistinių bakterijų gali trukdyti vystytis normaliai jų mikroflorai.

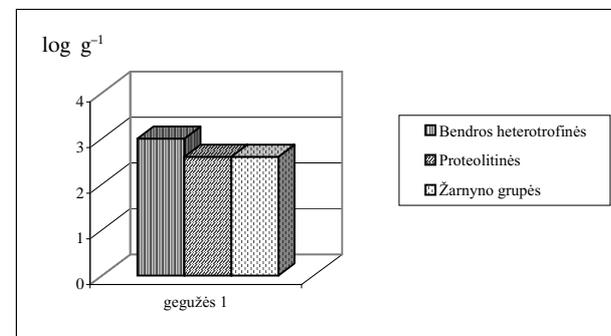
4 baseinas



7 baseinas



6 baseinas



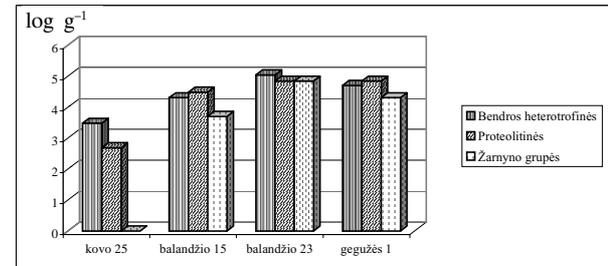
1 pav. Vandens bakteriologiniai tyrimai lašišų lervų pasyvio ir aktyvios mitybos laikotarpiu

Fig. 1. Bacteriological investigations of water in the active and passive feeding periods of salmon larvae

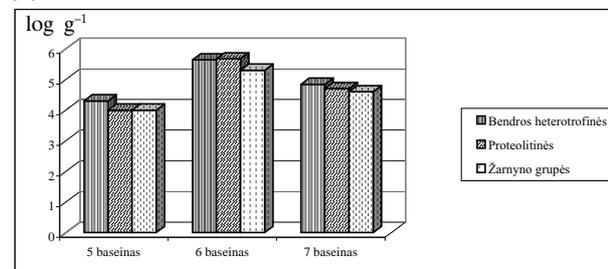
Atliktais mikrobiologiniais tyrimais nustatyta, kad vandenyje, kuriame buvo laikomi lašišų embrionai, greta bendrų heterotrofinių ir proteolitinių bakterijų buvo išskirtos žarnyno grupės bakterijos. Dėl vandens užteršimo organinės kilmės teršalais, sąlygojančiais puvinimo procesus vandenyje (1 pav.), pradėjo žūti embrionai. Mikrobiologiniai virškinamojo trakto tyrimai taip pat rodo, kad žarnyno bakterijų padaugėjo dešimtis kartų (2 pav.). Ištyrus Žeimenos upės vandenį nustatyta, kad jame gausu žarnyno grupės bakterijų, kurios į upę pateko atlydzio metu. Išivyravusios žarnyno grupės bakterijos ardo besiformuojančios normalios mikrofloros pusiausvyrą, mitybinių substratų virškinimą ir maisto medžiagų pasisavinimą.

Būtina gerinti vandens kokybę: mažinti parazitų ir organinių dalelių kiekį tiekiamame vandenyje, panaudojant ultravioletinius spindulius ir valymo filtrus su įvairaus skersmens poromis.

4 baseinas



gegužės 1 d.



2 pav. Lašišos lervų bakteriologiniai tyrimai pasyvio mitybos laikotarpiu

Fig. 2. Bacteriological investigations of salmon larvae in the period of passive feeding

**Žuvų pašarų mikroflora.** Gyvo maisto bakteriofloroje vyrauja sparčiai augančios rūšys (Vadstein et al., 1993) dėl didelio substrato ir organinių medžiagų kiekio. Daugelį žuvų ligų sukelia fakultatyviniai patogenai, kurie tampa patogenais aplinkos stresiniais veiksniais sumažinus šeimininko atsparumą ligoms.

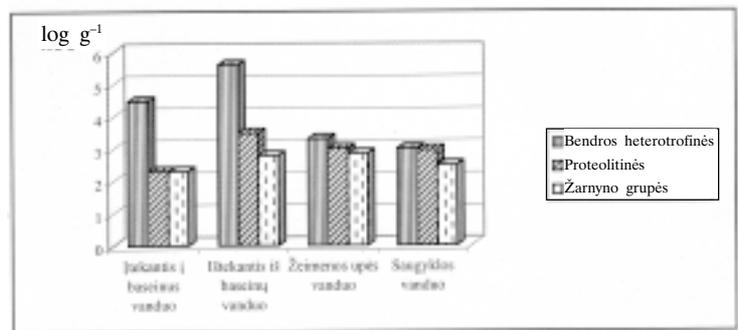
Pradedant šerti lašišų lervas dirbtiniais pašarais, labai svarbu juos vertinti bakteriologiškai. Mūsų duomenimis, Žeimenos žuvinaišios įmonėje lašišų lervas buvo šertos blūznimi. Tiroje homogenizuotoje blūz-

nyje, greta heterotrofinių, balandžio mėnesį vyravo žarnyno grupės bakterijos. Jų nustatyta ir tolesniuose bakteriologiniuose vandens tyrimuose (3 pav.). Mišrios lašišų lervų mitybos pradžioje labai svarbu parinkti tinkamus pašarus. Žeimenos žuvivaisos įmonėje mišrios lašišų lervų mitybos pradžioje lašišų lervos buvo šeriamos stambesniais pašarais, o vėliau ir smulkiu pradiniu pašaru *Krystal 3600*, todėl žarnyno grupės bakterijų nenustatyta.

**Lašišų jauniklių mikroflora.** Nustatyta, kad bakterijų apsigyvenimas žarnyne ankstyvose lervų vystymosi stadijose yra kompleksinis procesas, priklausantis nuo ikry, gyvo maisto ir vandens, kuriame gyvena lervos, bakteriofloros. Kai kuriais tyrimais nustatyta (Olafsen, 1984; Hansen, Olafsen, 1989), kad bakterijos, kurios apsigyvena nesimaitinančių jūrinių žuvų lervų virškinamajame trakte, atsiranda iš rezidentinės kiaušinėlių epifloros ritimosi metu.

Mūsų gautais duomenimis, baigiantis endogeniniam periodui ir pereinant laisviems embrionams į „lervutės“ stadiją, jų augimas sulėtėjo. Pasyvios mitybos pabaigoje augimo intensyvumas buvo 1,9%, bendra kūno masė sumažėjo (Kazlauskienė ir kt., 1998). Įtakos šioms procesams galėjo turėti žemoka vandens temperatūra, kurią didinti Žeimenos žuvivaisos įmonėje pradėta pavėluotai (28-ą vystymosi parą, o pagal normatyvinius reikalavimus – ne vėliau kaip 20-ą parą), dėl to lašišų lervutės su-

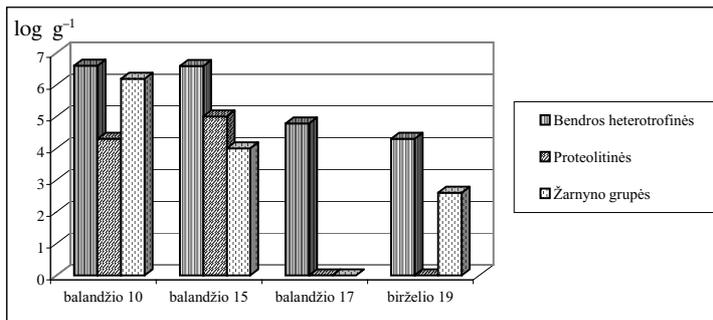
siformavo pavėluotai, mišrios mitybos pradžia užsitęsė iki 40 parų. Mikrobiologiniai vandens tyrimai (1 pav.) rodė, kad vanduo buvo užterštas organinės kilmės teršalais, sąlygojančiais puvinimo procesus vandenyje. Tuo pat metu lašišų lervose žarnyno grupės bakterijų padaugėjo dešimtis kartų (2 pav.). Šių bakterijų normaliai besivystančio individo endosistemoje neturėtų būti. Pagal minėtų bakterijų gausumą, ištekancio iš baseinų vandens kokybė buvo blogesnė negu įtekančio į baseinus vandens kokybė (4 pav.). Mikrobiologiniai lašišų lervų tyrimai parodė, kad bakterinis lašišų virškinimas formavosi vangiai – sutriko lašišų virškinamojo trakto bakteriocenozė pusiausvyra. 47-ą lašišų lervų augimo parą pradėjo masiškai žūti jaunikliai. Jų virškinamajame trakte gausiai nu-



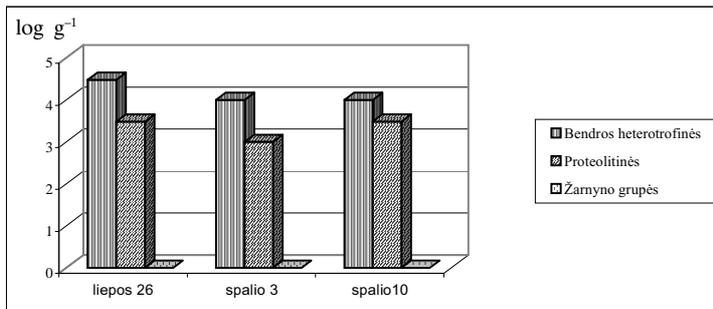
4 pav. Vandens, kuriame auginamos lašišos lervos, bakteriologiniai tyrimai

Fig. 4. Bacteriological investigations of water in which salmon larvae were grown

#### Blužnis



#### Krystal 3600



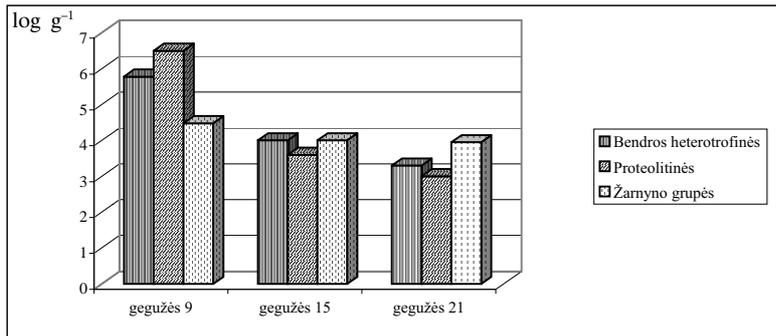
3 pav. Lašišų lervų pašaro bakteriologiniai tyrimai

Fig. 3. Bacteriological investigations of salmon larvae feed

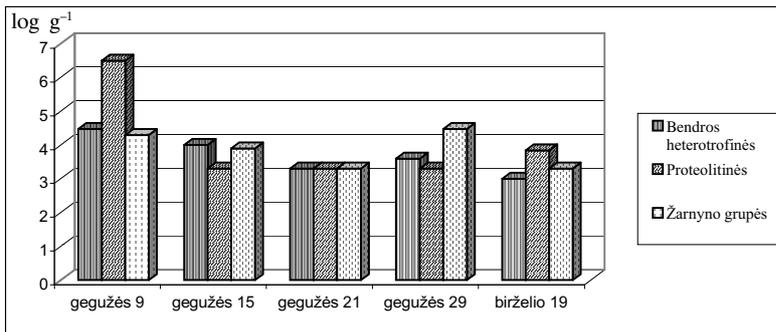
statyta žarnyno grupės bakterijų, kurios sukėlė grėsmę bakterinio virškinimo formavimosi efektyvumui, lašišų lervų augimui ir gyvybingumui. Kazlauskienės ir kt. (1998) duomenimis, per 10–12 mišrios mitybos parų žuvo 37,7% lašišų lervų.

Aktyvios lašišų mitybos pradžioje, pakeitus pašarus smulkesniais, pridėjus probiotikų, fiziologinė lašišų mailiaus būklė šiek tiek pagerėjo, tačiau bakterinio virškinimo formavimasis buvo sutrikdytas (5 pav.). Žuvusių lervų padaugėjo iki 44,3% (nuo likusių gyvų mišrios mitybos pabaigoje) (Kazlauskienė ir kt., 1998). Auginant lervas rūšiai palankiomis dirbtinėmis sąlygomis, jų augimo intensyvumas priklauso nuo maisto medžiagų kiekio ir kokybės, taip pat nuo fiziologinių procesų spartos ir energijos panaudojimo gyvybiškai svarbioms funkcijoms realizuoti ir organizmui augti (Рыжков, 1976). Lašišų virškinamojo trakto (žarnyno ilgėjimas, mikrofloros atsiradimas ir jos sudėties formavimasis), vidiniai struk-

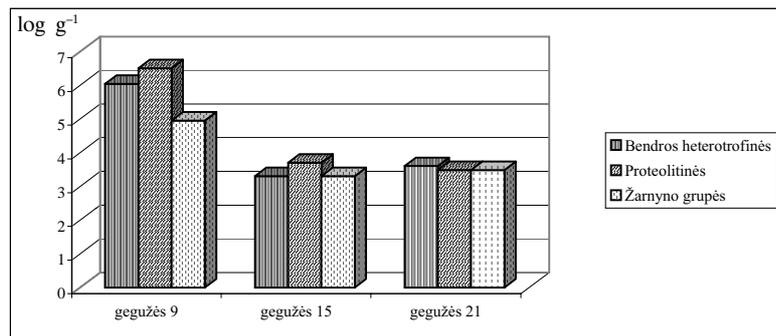
4 baseinas



5 baseinas



7 baseinas



5 pav. Lašišos jauniklių virškinamojo trakto bakteriologiniai tyrimai mišrios ir aktyvios mitybos laikotarpiu

Fig. 5. Bacteriological investigations of the digestive tract of salmon juveniles in the period of mixed and active feeding

tūriniai ir adaptyvieniai pokyčiai rodo, kad organizmas yra susiformavęs maitintis egzogeniškai.

Žuvų jauniklių mikroflora yra labai įvairi. Jos formavimuisi turi įtakos ikrelių, gyvo maisto ir vandens mikroflora. Mikroorganizmai, kurie gali apsigyventi virškinamajame trakte, yra specializuoti išlikti ir daugintis jame. Tačiau žarnyno mikrofloros sudėtis labai kinta bei priklauso nuo žuvų rūšies ir išsivystymo stadijos. Specifiniai bakteriniai patogenai gali būti mirtingumo priežastis žuvų veisyklose, nes intensyvus jų augimas dažnai suardo natūralius barjerus tarp šeimininko ir patogeno. Antibiotikų naudojimas profilaktikai daugelyje akvakultūros įmonių sudaro sąlygas antibiotikams atsparių bakterijų išsivystymui (Towner, 1995).

Žeimenos lašišų veislyne dėl neoptimalaus temperatūros režimo, fiziologiškai nesubalansuotų pašarų, vitaminų stokos buvo konstatuotas miksobakterijų paplitimas lašišų jauniklių žiaunų mikrofloroje (Virbickas, 2002).

Pagal tai, kurios virškinamojo trakto mikroorganizmų fermentinės sistemos dalyvauja skaidant mitybinius substratus, galima spręsti apie lašišinių žuvų jauniklių galimybę prisiderinti prie tam tikros rūšies mitybinių substratų (Šyvokienė ir kt., 1997). Šiuo atveju gyvūninės kilmės maistas (blužnis) buvo tinkamiausias lašišų jaunikliams. Tai rodo ir lašišų endosistemoje vyraujančios bendros heterotrofinės bakterijos. Šių bakterijų išskiriami metabolitai suintensyvina žuvų medžiagų apykaitą. Naudingos, arba probiotinės, bakterijos į lervų endosistemą patenka su maistu ir vandeniu. Tai gali užkirsti kelią patogeninių bakterijų įsivyravimui (Rinø, Birkbeck, 1999).

Tačiau pagrindiniai biotechnikos pažeidimai – temperatūros režimo nesilaikymas, bakteriologiškai netinkama vandens ir pašaro kokybė – sutrikdo normalios bakteriofloros formavimąsi lašišų jauniklių endosistemoje.

Straipsnis parengtas vykdant mokslinio tyrimo darbą, kurį finansavo Lietuvos žemės ūkio ministerija.

Gauta  
2002 10 22

#### Literatūra

- Andrews J. H., Harris R. F. r- and k- selection in microbial ecology. *Adv. Microb. Ecol.* 1986. Vol. 9. P. 99–147.
- Austin B, Al-Zahrani AMJ. The effect of antimicrobial compounds on the gastrointestinal microflora of rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.* 1998. Vol. 33. P. 1–14.
- Bergh Ø, Nass K. E., Herboe T. Shift in the intestinal microflora of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) larvae during first feeding. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science.* 1994. Vol. 51. P. 899–1903.
- Blanch A. R., Alsina M., Simón M., Jofre J. Determination of bacteria associated with reared turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae. *Journal of Applied Microbiology.* 1997. Vol. 82. P. 729–734.

5. Cahill M. M. Bacterial Flora of Fishes: *A Review. Microbial Ecology*. 1990. Vol. 19. P. 21–41.
6. Campbell A. C., Buswell J. A. The intestinal microflora of farmed Dover sole (*Solea solea*) at different stages of fish development. *Journal of Applied Bacteriology*. 1983. Vol. 55. P. 215–223.
7. Enger Ø., Hoff K. A., Schei G. H., Dundas S. Starvation survival of the fish pathogenic bacteria *Vibrio anguillarum* and *Vibrio salmo nicide* in marine environments. *FEMS Microbial Ecology*. 1990. Vol. 74. P. 215–220.
8. Fänge R., Grove D. Digestion. In: *Fish Physiology. Vol. VIII. Bioenergetics and Growth* (Hoar W. S., Randall D. J., Brett J. R., eds.). New York: Academic Press, 1979. P. 162–260.
9. Gonzalez C. J., Lopez-Diaz T. M., Garcia-Lopez M. L., Prieto M., Otero A. Bacterial microflora of wild brown trout (*Salmo trutta*), wild pike (*Erox lucnis*) and aquacultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Food Protection*. 1999. Vol. 62. No. 11. P. 1270–1277.
10. Govoni J. J., Boehlert G. W., Watanabe Y. The physiology of digestion in fish larvae. *Environmental Biology of Fishes*. 1986. Vol. 16. P. 59–77.
11. Hansen G. H., Bergh Ø., Michaelsen J., Knappskog D. *Flexibacter ovolyticus* sp. nov., a pathogen of eggs and larvae of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* L. *Intern. J. Systematic Bacteriol.* 1992b. Vol. 42. P. 451–458.
12. Hansen G. H., Olafsen J. A. Bacterial colonisation of cod and halibut eggs in marine aquaculture. *Appl. Environ. Microbiol.* 1989. Vol. 55. P. 1435–1446.
13. Hansen G. H., Strøm E., Olafsen J. A. Effect of different holding regimes on the intestinal microflora of herring (*Clupea harengus*). *Appl. Environ. Microbiol.* 1992a. Vol. 58. P. 461–470.
14. Kazlauskienė N., Stasiūnaitė P., Šyvokienė J., Mickėnienė L. Lašišos (*Salmo salar* L.) ritualių paauginimas Žeimenos žuvivaisos įmonėje. *Žuvininkystė Lietuvoje* III (2 dalis). Vilnius, 1998. P. 153–164.
15. Morita R. Y. Starvation- survival of heterotrophs in the marine environment. *Adv. Microb. Ecol.* 1982. Vol. 6. P. 171–198.
16. Munro P. D., Barbour A., Birkbeck T. H. Influence of the rate of bacterial colonisation of the gut of turbot larvae survival. In: *Proceedings of the First International Conference on Fish Farming Technology* (Reinertsen H., Dahle L. A., Jørgensen L., Tvinnereim K., eds.). Trondheim, Norway, 9–12 August 1993. AA Balkena, Rotterdam. P. 85–92.
17. Munro P. D., Barbour A., Birkbeck T. H. Comparison of the gut bacterial flora of start-feeding larvae turbot reared under different conditions. *Journal of Applied Bacteriology*. 1994. Vol. 77. P. 560–566.
18. Muroga K., Higashi M., Keitoku H. The isolation of intestinal microflora of farmed red seabream (*Pagurus major*) and bleack seabream (*Acanthopagrus schlegeli*) at larval and juvenile stages. *Aquaculture*. 1987. Vol. 65. P. 79–88.
19. Nicolas J. L., Robic E., Ansquer D. Bacterial flora associated with trophic chain of microalgae, rotifers and turbot larvae: influence of bacteria on larvae survival. *Aquaculture*. 1989. Vol. 83. P. 237–248.
20. Nieto T. P., Toranzo A. E., Barja J. L. Comparison between the bacterial flora associated with fingerling rainbow trout cultured in two different hatcheries in the north-west of Spain. *Aquaculture*. 1984. Vol. 42. P. 193–206.
21. Olafsen J. A. Ingestion of bacteria by cod (*Gadus morhua*) larvae. In: *The propagation of cod Gadus morhua L.* (E. Dahl, D. S. Danielssen, P. Moksness, P. Solemdal, eds.). 1984. P. 627–643.
22. Ringø E., Birkbeck T. H. Intestinal microflora of fish larvae and fry. *Aquaculture Research*. 1999. Vol. 30. Iss. 2.
23. Ringø E., Birkbeck T. H., Munro P. D., Vadstein O., Hjelmelond K. The effect of early exposure to *Vibrio pelagnis* on the aerobic bacterial flora of turbot *Scophthalmus maximus* larvae. *Journal of Applied Bacteriology*. 1996. Vol. 81. P. 207–211.
24. Ringø E., Vadstein O. Colonization of *Vibrio pelagius* and *Aeromonas caviae* in early developing turbot *Scophthalmus maximus* larvae. *Journal of Applied Microbiology*. 1998. Vol. 84. P. 227–233.
25. Roszak D. B., Colwell R. R. Survival strategies of bacteria in the natural environment. *Microbiol. Rev.* 1987. Vol. 51. P. 365–379.
26. Sakata T. Microflora in the digestive tract of fish and shellfish. *Microbiology of poecilotherms* (R. Lesel, ed.). Elsevier Amsterdam, New York, Oxford, 1990. P. 217–223.
27. Skjermo J., Vadstein O. Characterization of the bacterial flora of mass cultivated *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia*. 1993. Vol. 255/256. P. 185–191.
28. Skrodenytė V. *Dependence on environmental pollution of bacterioflora found in water and fish digestive tract, and their enzymatic activity*. Doctoral dissertation. Summary. Vilnius, 1997.
29. Spaunggaard B., Huber I., Nielsen J., Nielsen T., Appel K. F., Gram L. The microflora of rainbow trout intestine: a comparison of traditional and molecular identification. *Aquaculture*. 2000. Vol. 182. No. 12. P. 1–15.
30. Strøm E., Ringø E. Changes in the bacterial composition of early developing cod *Gadus morhua* larvae following inoculation of *Lactobacillus plantarum* into the water. In: *Physiological and biochemical aspects of fish development* (B. Walther B., H. J. Fyn, eds.). 1993. P. 226–236.
31. Sugita H., Tsunohara M., Ohkashi T., Deguchi Y. The establishment of an intestinal microflora in developing goldfish (*Carassius auratus*) of culture ponds. *Microbiol. Ecol.* 1988. Vol. 15. P. 333–344.
32. Šyvokienė J., Mickėnienė L., Kazlauskienė N., Stasiūnaitė P. Makro- ir mikroorganizmų tarpusavio santykių įvertinimas lašišinėse žuvyse imant pavyzdžiu šlakį. *Ekologija*. 1997. Nr. 4. P. 40–48.
33. Tanasomwang V., Muroga K. Intestinal microflora of larval and juveniles stages in Japanese flounder (*Paralichthys olivacens*). *J. Fish. Pathol.* 1988. Vol. 23. P. 77–83.
34. Tannock G. W. Control of gastrointestinal pathogens by normal flora. In: Klug M. J. (ed.). *Current perspectives in microbial ecology*. 1983. P. 374–382.
35. Tannock G. W. *Probiotics – a critical review*. Nymondham, Norfolk, England: Horison Scientific Press, 1999.

36. Towner K. J. The genetics of resistance. In: *Antimicrobial chemotherapy* (D. Greenwood, ed.). Oxford: Oxford University Press, 1995. P. 159–167.
37. Vadstein O., Øie G., Olsen Y., Salvesen I., Skjermo J., Skjåk-Break G. A strategy to obtain microbial control during larvae development of marine fish. In: *Proceedings of the First International Conference on Fish Farming Technology* (H. Reinertsen, L. A. Dahle, L. Jørgensen, K. Tvinnereim, eds.). Trondheim, Norway, 9–12 August 1993. AA Balkena, Rotterdam, 1993. P. 69–75.
38. Virbickas J., Jankauskienė R., Arbačiauskienė V., Kazlauskienė N., Vosyliene Z., Lukšienė D. Muxobacteriosis of juvenile salmonide – an indicator of their weakening physiological status. *Acta Zoologica Lituanica*. 2002. Vol. 12. No. 1. P. 65–69.
39. Yoshimisu M., Kimura T., Sakai M. Studies of the intestinal microflora of salmonids. 1. The intestinal microflora of fish reared in fresh water und sea water. *Bull. Jap Soc. Sci. Fish.* 1976a. Vol. 42. P. 91–99.
40. Yoshimizu M., Kamiyama K., Kimura T., Sakai M. Studies on the intestinal microflora of fresh water salmon. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 1976b. Vol. 42. P. 1281–1290.
41. Кузинский О. Ю. Микроскопическая анатомия пищеварительного тракта мальков семги *Salmo salar* L. В сб.: *Воспроизводство и акклиматизация лососевых в Баренцевом и Белом морях*. Москва–Ленинград: Наука, 1989. С. 112–119.
42. Кузнецов С. И., Дубинина Г. А. *Методы изучения водных микроорганизмов*. Москва, 1989.
43. Мицкене Л. *Микрофлора пищеварительного тракта речных раков и ее связь с питанием*. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Минск, 1992.
44. *Облигатный симбиоз микрофлоры пищеварительного тракта и организма*. Вильнюс, 1989.
45. Романенко В. И. *Микробиологические процессы продукции и деструкции органического вещества*. Ленинград, 1985.
46. Рыжков Л. П. *Морфофизиологические закономерности и трансформация вещества в раннем онтогенезе пресноводных лососевых рыб*. Москва, 1976.
47. Сеги Й. *Методы почвенной микробиологии*. Москва, 1983.
48. Тимейко В. Н., Новиков Г. Г. Влияние температурного фактора на процессы резорбции запасных белковых веществ желтка в развивающейся икринке семги. Активность протеолитических ферментов в процессе эмбриогенеза. *Вестник МГУ. Сер. биология*. 1984. № 2. С. 47–52.
49. Тимейко В. Н., Новиков Г. Г. Протеолитическая активность пищеварительного тракта семги *Salmo salar* L. в процессе личиночного развития. *Вопросы ихтиологии*. 1987. Т. 27. № 2. С. 300–346.
50. Тряпшене О. П. *Синтез витаминов группы В микроорганизмами пищеварительного тракта и их динамика в организме рыб*. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Вильнюс, 1974.
51. Уголев А. М., Кузмина В. В. *Пищеварительные процессы и адаптация у рыб*. Санкт-Петербург, 1993.
52. Шивокене Я. *Микрофлора пищеварительного тракта рыб и ее биохимическая активность*. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Вильнюс, 1973.
53. Шивокене Я. *Симбионтное пищеварение у гидробионтов и насекомых*. Вильнюс, 1989а.
54. Шивокене Я. *Экологические аспекты симбионтного пищеварения у гидробионтов*. Автореф. дис. ... доктора биол. наук. Москва, 1989б.
55. Янкаускаене Р. *Лактофлора пищеварительного тракта карпов (*Cyprinus carpio*)*. Автореф. дис. ... доктора биол. наук. Вильнюс, 1996.

**Janina Šyvokienė, Liongina Mickėnienė,  
Pranė Stasiūnaitė**

#### THE ROLE OF MICROORGANISMS IN THE NUTRITION OF SALMON (*SALMO SALAR* L.) LARVAE

#### S u m m a r y

The abundance and composition of developing bacterioflora in a larval endosystem have been analysed. The origin of bacterioflora in the salmon endosystem is linked with the beginning of feeding of these organisms. It was established that when the quantity of yolk in salmon larvae was decreasing, when the environment temperature was favourable and the water quality in basins conformable, the bacterial digestion turning up in the endosystem gained an opportunity to go over to active nutrition.

The bacterioflora found in the salmon endosystem was investigated at different developmental stages of these fish. The diets of fish, the bacterioflora of basins and the Žeižėmena River water were also examined; 180 salmon larvae, 9 diets and 27 samples of water were homogenised for microbiological analysis.

Spleen was found to be the most favourable food for salmon larvae. This was confirmed by the abundance of predominant total heterotrophic bacteria in the salmon endosystem. However, it was established that the ignorance of temperature regime, bacteriologically unfavourable quality of water and food prevented the development of normal bacterioflora in the salmon larvae endosystem.

**Key words:** salmon, larvae, bacterioflora, nutrition