



Latvijas Lauksaimniecības universitāte
Veterinārmedicīnas fakultāte
PĀRTIKAS UN VIDES HIGIĒNAS INSTITŪTS

*Latvia University of Agriculture
Faculty of Veterinary Medicine
INSTITUTE OF FOOD AND ENVIRONMENTAL HYGIENE*

Ruta Medne
Mg. biol.

**LAŠU SPURU NEKROZES KLĪNISKO PAZĪMJU UN
ETIOLOĢISKO FAKTORU IZPĒTE**

**RESEARCH OF CLINICAL SIGNS AND ETIOLOGICAL
FACTOR OF SALMON FIN NECROSIS**

Promocijas darba
KOPSAVILKUMS
Veterinārmedicīnas nozarē,
Mikrobioloģijas un infekcijas slimību apakšnozarē

SUMMARY
*of doctoral thesis
for scientific degree Dr. med. vet.*

Jelgava, 2011

Latvijas Lauksaimniecības universitāte
Veterinārmedicīnas fakultāte
Pārtikas un vides higiēnas institūts

*Latvia University of Agriculture
Faculty of Veterinary Medicine
Institute of Food and Environmental Hygiene*

Promocijas darbs izstrādāts:

- Latvijas Lauksaimniecības universitātes Veterinārmedicīnas fakultātes Pārtikas un vides higiēnas institūtā;
- Latvijas Zivsaimniecības pētniecības institūtā;
- Latvijas Zivju Resursu aģentūras Akvakultūras laboratorijā un specializētajās lašu audzētavās.

Research has been carried out:

- Institute of Food and Environmental Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine,
- Latvia University of Agriculture;
- Latvia Fisheries Research institute;
- Laboratory of aquaculture and specialized fish farms of Latvia Fish Resources agency.

Promocijas darba zinātniskais vadītājs:

Scientific supervisor:

Dr. med. vet., asoc. profesors **Edgars Liepiņš**

Oficiālie recenzenti:

Official reviewers:

Dr.habil. agr., Starptautiskās ekoloģijas un dzīvības procesu nodrošinājuma Zinātņu akadēmijas īstenais loceklis, profesors **Jāzeprs Sprūžs**

Dr. med. vet., asoc. profesore **Vita Antāne**

Dr. biol., LHEI vadošā pētniece, LU docente, **Maija Balode**

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2011. gada 21. jūnijā plkst. 13.00 LLU Veterinārmedicīnas fakultātē, Jelgavā, Kr. Helmaņa ielā 8, 1. auditorijā

The doctoral thesis will be defended in a public session of the Doctoral Committee held on 21th June, 2011, at 13.00, at the Faculty of Veterinary Medicine LUA, Kr. Helmaņa iela 8, Jelgava

SATURS/ CONTENTS

DARBĀ LIETOTO TERMINU UN SAĪSINĀJUMU SKAIDROJUMS	5
EXPLANATION OF TERMS AND ABBREVIATIONS USED IN DISSERTATION	6
IEVADS	8
MATERIĀLS UN METODES.....	10
Darba veikšanas vietas	10
Pētījumā izmantotie laši	10
Promocijas darba vispārējā shēma	10
Epidemioloģiskā izmeklēšana	11
Lašu mazuļu spuru stāvokļa klīniskā izmeklēšana.....	11
Lašu spuru bakterioloģiskā izmeklēšana.....	12
Eksperimentālā inficēšana	12
Pētījuma statistiskā un matemātiskā datu apstrāde.....	14
DARBA REZULTĀTI UN DISKUSIJA.....	15
Spuņu nekrozes epidemioloģiskās situācijas novērtējums Latvijā.....	15
Spuņu nekrozes klīniskais novērtējums	18
Lašu spuru patoloģiskā materiāla bakterioloģiskā analīze.....	24
Lašu mazuļu eksperimentālās lašu inficēšanas rezultāti.....	29
SECINĀJUMI	32
IETEIKUMI PRAKSEI	33
PĒTĪJUMU REZULTĀTU APROBĀCIJA	34
ZINĀTNISKĀS PUBLIKĀCIJAS UN TĒZES	35
INTRODUCTION.....	36
MATERIALS AND METHODS	38
The place of the research.....	38
Salmon used in investigation.....	38
The general scheme of doctoral thesis	38
Epidemiological investigation	39
Clinical investigation of salmon parr fin	39
Artificial infection	40

Statistical analyses of dates	42
RESULTS AND DISCUSSION	43
Evaluation of fin necrosis epidemiological situation in Latvia	43
The clinical evaluation of fin necrosis	44
Bacteriological analysis of salmon fins pathological material	47
Results of artificial infection of salmon parrs	49
CONCLUSION	51
RECOMENDATION FOR PRACTICE	52
APPROBATION OF RESULTS OF THE RESEARCH	53
SCIENTIFIC PUBLICATIONS AND THESIS.....	54

DARBĀ LIETOTO TERMINU UN SAĪSINĀJUMU SKAIDROJUMS

A. – *Aeromonas* ģints.

Akvakultūra – ūdensdzīvnieku audzēšana vai kultivēšana, izmantojot metodes, kas paaugstina šo dzīvnieku ražību virs vides dabiskā līmeņa, ja šie dzīvnieki vairošanās vai audzēšanas laikā līdz pat to savākšanai (ieskaitot) atrodas vienas vai vairāku fizisku vai juridisku personu īpašumā.

Akvakultūras dzīvnieki – ūdensdzīvnieki (šeit: *Agnatha* virsklases, *Chondrichthyes* un *Osteichthyes* klases zivis);

Akvārijs – mākslīga zivju audzēšanas tvertne, kura piemērota maza akvakultūras dzīvnieku skaita turēšanai. Akvārijs ir aprīkots ar temperatūras regulētāju un aeratoru.

AP – akūta progresējoša spuru nekroze, uz spuras dorsālās malas audu atmišķēšanās redzama kā balta vai pelēcīga masa, dažreiz redzami asinsizplūdumi.

Baseins – mākslīga zivju audzēšanas tvertne. Latvijā lašu audzēšanai izmantoti apaļplūsmas baseini (2 x 2 m), kur ūdens ieplūde ir vienā malā, notece baseina vidū, ūdens plūsma riņķo pa baseinu, un garenplūsmas baseini (2 x 0,5 m), kuros ūdens ieplūde ir vienā, bet izplūde otrā galā.

Ceļotājzivs – zivis, kurām raksturīgas barošanās un/vai nārsta migrācijas, pārvietojoties no saldūdens uz sālsūdeni un otrādi.

Dz – dzīstoša spura – spuru staros sāk saviesties saistaudi, taču vietām vēl novēro asiņojošus laukumus.

D₁ – spuras bojājumi ir līdz 30 %.

D₂ – spuras bojājumi ir no 30 līdz 70 %.

D₃ – spuras bojājumi ir virs 70 %.

D₀ – spuras, kurām bojājumus nenovēro.

F. – *Flavobacterium* ģints.

ICES – Starptautiskā jūras pētniecības padome.

I–K – eksperimenta grupa – 14 laši, kuriem vēdera dobumā injicējām sterilu fizioloģisko šķīdumu (saīsinājums no vārdiem „injekcija”, „kontrolē”).

I–H – eksperimenta grupa – 14 laši, kuriem vēdera dobumā injicējām *A. hydrophila* („I” saīsinājums no vārda „injekcija”).

I–S eksperimenta grupa–14 laši, kuriem, vēdera dobumā injicējām *A.salmonicida* (saīsinājums no vārda „injekcija”).

kvv – koloniju veidojošās vienības.

Lašu viengadnieki – vienu gadu veci laša mazuļi, kuri vēl nav sasnieguši smolta stadiju.

L_T – totālais zivs garums, mērīts no purna līdz perpendikulam, kurš novilkts no astes spuras garāko staru galiem pret zivs garenasi.

LZPI – Latvijas Zivsaimniecības pētniecības institūts.

LZRA – Latvijas Zivju resursu aģentūra.

M – sievišķā dzimuma laši.

Oksimētrs – digitāls aparāts skābekļa, pH un temperatūras mērīšanai ūdenī.

Pieaugušie laši jeb lašu vaislinieki – laši, kuri vecāki par 3 gadiem. Jūras piekrastē vai upēs nozvejotie laši, kuri migrē uz nārsta vietām.

SD – spuru nekrozes attīstības stadija, kad spuru plēve un stari ir sadzijuši.

Smolti – vienu vai divus gadus veci lašu mazuļi, kuru organisms ir piemērots dzīvei sālsūdenī. Ārēji redzamās pazīmes: zvīņas kļūst sudrabainas un izmainās plūdlīnijas forma.

Smoltifikācija – ir bioķīmisku, fizioloģisku, morfoloģisku un uzvedības izmaiņu komplekss, kā rezultātā jaunie laši iegūst spēju piemēroties dzīvei jūrā.

spp. – ģints.

T – vīrišķā dzimuma laši

Vienvasaras mazuļi – lašu mazuļi no šķilšanās (martā, aprīlī) līdz nākamā gada februāra beigām.

VS – vesela spura (bez ārēji redzamām slimības pazīmēm).

V-H – eksperimenta grupa – 14 laši, kurus 24 h vannojām *A. hydrophila* baktēriju suspensijā.

V-S – eksperimenta grupa – 14 laši, kurus 24 h vannojām *A. salmonicida* baktēriju suspensijā.

VB-K – eksperimenta grupa – 14 laši, kuriem veicām iegriezumu muguras spurā, pēc tam un izturējām tīrā ūdenī, radot eksperimenta grupām līdzīgus apstākļus.

VB-H eksperimenta grupa – 14 laši, kuriem veicām iegriezumu muguras spurā, pēc tam 24 h vannojām *A. hydrophila* baktēriju suspensijā.

VB-S eksperimenta grupa – 14 laši, kuriem veicām iegriezumu muguras spurā, pēc tam 24 h vannojām *A. salmonicida* baktēriju suspensijā.

V-K eksperimenta grupa – 14 laši, kurus izturējām tīrā ūdenī.

z/a – zivju audzētava

EXPLANATION OF TERMS AND ABBREVIATIONS USED IN DISSERTATION

A. – genus *Aeromona*

Adult salmon or salmon breeders – salmon older than 3 years. Salmon caught in coastal region or rivers that migrate to spawning areas.

Aquaculture – the rearing or cultivation of water animals by using methods that elevate a productivity of animals to levels higher than natural if those animals during the breeding or rearing till their collection are the property of one or more physical or legal persons.

Aquaculture animals – water animals (fish of class *Chondrichthyes* and *Osteichthyes*)

Aquarium – artificial container for fish rearing which is adapted for small count of aquaculture animals. An aquarium is equipped with temperature adjuster and aerator.

AP – acute, progressive fin necrosis. On the dorsal side of fin malacia of tissue is seen as white or greyish mass, sometimes haemorrhages can be seen.

cfu – colony-forming unit.

Dz – healing fin – connective tissue start to spread in fin rays but still some erosions are seen.

D₁ – fin damage to 30%.

D₂ – fin damage from 30 to 70%.

D₃ – fin damage above 70%.

D₀ – fin without damage.

F. – genus *Flavobacterium*.

ICES –International Council for the Exploration of the Sea.

I-K – experimental group – 14 salmon that had injection of sterile saline in abdominal cavity.

I-H – experimental group – 14 salmon that had injection of *A. hydrophila* in abdominal cavity.

I-S – experimental group – 14 salmon that had injection of *A. salmonicida* in abdominal cavity.

LFRA – Latvia Fish Resources Agency.

LFRI – Latvia Fisheries Research Institute.

L_T – total length of the fish measured from nose to perpendicular which is drawn from the longest rays of caudal fin to longitudinal axis of the fish.

M – salmon of the female gender.

Migrating fish – fish which migrate for feeding and/or spawning from freshwater to salt-water and the other way.

One-summer old parrs – salmon parrs from hatching (in March, April) till the end of February next year.

One year old salmon – one year old salmon parrs which haven't reached smolt stage yet.

Oximeter – digital device for oxygen, pH and temperature measurement.

SD – the stage of development of fin necrosis, when fin membrane and rays have healed.

Smolts – one or two years old salmon parrs which are adapted for living in salt-water. Visible characteristics – scales become silver and streamline shape changes.

Smoltification – complex of biochemical, physiological, morphological and behaviour changes consequently to which young salmon obtain ability to adapt for living in the sea.

spp. – genus.

T – salmon of male gender.

Tank - artificial container for fish rearing. There are circular-flow tanks (2 x 2 m) used for salmon rearing in Latvia, the inflow is in one side of a tank, the run-off in the middle of a tank, water flow circulates in the tank, and elongate-flow tanks (2 x 0,5 m), where an inflow is in the one end and a run-off in the other.

VB-K – experimental group – 14 salmon which were cut in dorsal fin and dipped in clear water.

VB-H – experimental group – 14 salmon which were cut in dorsal fin and dipped in *A. hydrophila* suspension for 24 hours.

VB-S – experimental group – 14 salmon which were cut in dorsal fin and dipped in *A. salmonicida* suspension for 24 hours.

V-H – experimental group – 14 salmon that were dipped in *A. hydrophila* suspension for 24 hours.

V-K – experimental group – 14 salmon which were dipped in clear water.

VS – healthy fin (without visible signs of illness).

V-S – experimental group – 14 salmon that were dipped in *A. salmonicida* suspension for 24 hours.

IEVADS

Baltijas lasis (*Salmo salar L.*) ir plēsīga ceļotājzivs, kura nārsto upju krācēs oktobra beigās un novembrī. Mazuļi šķiļas pavasarī un upēs uzturas vēl 1–3 gadus, tad, sasnieguši smolta stadiju, dodas uz jūru, lai pēc dažiem gadiem uz nārstu atgrieztos dzimtajā upē.

Lielākā lašu nārsta upe Latvijā līdz 20. gadsimta sākumam bija Daugava. Trīsdesmitajos gados uzbūvēja Ķeguma hidroelektrostaciju (HES), kurā izveidoja migrējošo zivju pārlaišanas ceļu. Savukārt 1965. gadā uzbūvētajā Pļaviņu HES un 1974. gadā uzceltajā Rīgas HES zivju ceļi netika ierīkoti, līdz ar to ceļotāju zivju, t. sk. lašu, nārsta iespējas Daugavā tika pilnīgi zaudētas. Lai saglabātu lašu populāciju iepriekšējos apmēros, līdz ar HES kaskādes būvniecību cēla arī zivju audzētavas *Sērene, Tome, Ķegums, Dole*. Zivju akvakultūru pēc to audzēšanas mērķa var iedalīt divās lielās grupās: audzēšana, lai iegūtu preču zivis, un audzēšana, lai kompensētu dabai nodarīto antropogēno kaitējumu.

Latvijā ir izstrādātas Zivju resursu atražošanas pamatnostādnes 2011.–2016. gadam, kuras īsteno gan valsts, gan privātās audzētavas. Katrai no tām ir sava specializācija pamatnostādnēs noteikto zivju sugu populāciju atjaunošanā un saglabāšanā. Valsts zivju audzētavās iegūst lašus, taimiņus, plaužus, līdakas, vimbas, nēģus, kā arī nelielos apjomos citas zivis.

Pēc ICES (Starptautiskās jūras pētniecības padomes) datiem lašu krājumu stāvoklis Baltijas jūrā ir stabils, tomēr pamatā tas joprojām ir atkarīgs no laša mākslīgās atražošanas. Visas Baltijas jūras valstis ik gadu kopumā izlaiž 5,5 miljonus lašu smoltu, no tiem 0,8 miljoni (14,5 %) ir Latvijas zivju audzētavās iegūtie laši. Latvijas izcelsmes laši barojoties migrē pa visu Baltijas jūru. Iezīmētie Latvijas laši ir nozvejoti Botnijas, Somu līčos un Bornholmas salas tuvumā. Barojas pat 800 km attālumā no dzimtās upes (Mitāns, 2004).

Audzējot zivis mākslīgos apstākļos, ar ūdeni no upēm tiek atnesti parazīti un patogēnie mikroorganismi, kuri dabīgos apstākļos, iespējams, neizsauktu saslimšanu, taču, ņemot vērā zivju lielo skaitu baseinos, mākslīgi radīto stresu (barotavu tīrīšana, barības maiņa, zivju šķirošana u. c.) un mikroorganismu virulences celšanos pasažējoties caur vājākām zivīm, audzētavās paaugstinās zivju saslimstība. Tāpēc liela uzmanība jāpievērš veselu un dzīvotspējīgu lašu mākslīgajai atražošanai.

Smoltu audzēšana ir darbietilpīgs un dārgs process, kurš ilgst pusotru vai pat divarpus gadus. Audzēšanu apgrūtina lašu slimošana, kuras rezultāts ir zivju aizkavēta augšana un attīstība, kam seko vēl viens audzēšanas gads (jo nav sasniegta smolta stadija), zivju izbrāķēšana rudenī, laikā, kad zivju audzēšanā ir ieguldīti ievērojami līdzekļi, izdevumi par medikamentiem, kā arī zivju mirstība slimību rezultātā. Viena no biežāk sastopamajām smoltu audzētāju problēmām ir lašu mazuļu spuru nekroze.

Visai maz un pretrunīgi ir dati par spuru nekrozes izpausmēm un cēloņiem Baltijas lašiem. Daudzi zinātnieki ir pētījuši spuru patoloģijas dažādu sugu zivīm dabiskās ūdenstilpnēs – jūrās un okeānos.

Pētījuma mērķis

Izpētīt lašu spuru nekrozes izplatību Latvijas zivjaudzētavās, kā arī novērtēt spuru nekrozes sindroma etioloģisko faktoru un tā ietekmi uz lašu mazuļu veselību.

Darba uzdevumi

1. Veikt lašu spuru nekrozes epidemioloģiskos pētījumus.
2. Izvērtēt lašu mazuļu klīnisko stāvokli, spuru bojājumu raksturu un apjomu Latvijas specializētajās lašu audzētavās.
3. Izpētīt un noteikt spuru nekrozes klīnisko ainu pieaugušajiem– vaislai izmantojamiem lašiem un salīdzināt šos rādītājus ar lašu smoltiem.
4. Noteikt kopsakarības starp smoltu un vaislinieku spuru stāvokli, balstoties uz objektīviem kritērijiem.
5. Identificēt un raksturot spuru nekrozi izraisošos mikroorganismus.
6. Noteikt patogēno aģentu un tā ietekmi uz lašu veselību.

Darba zinātniskā novitāte

1. Pirmo reizi Latvijā veikti pētījumi par lašu spuru nekrozes klīniskajām izpausmēm.
2. Apzināta gram-negatīvo un gram-pozitīvo mikroorganismu skaita sakarība lašu spurās.
3. Noskaidrotas zivju audzētavās esošo patogēno mikroorganismu sugas zivju spuru nekrozes gadījumā.
4. Ir veikta lašu spuru nekrozes etioloģisko faktoru identifikācija.

MATERIĀLS UN METODES

Darba veikšanas vietas

Darba pētījuma daļu izstrādājām no 2001. līdz 2006. gadam Latvijas Lauksaimniecības universitātes Veterinārmedicīnas fakultātes Pārtikas un vides higiēnas institūtā, Latvijas Zivsaimniecības pētniecības institūtā, Latvijas Zivju resursu aģentūras Akvakultūras laboratorijā un specializētajās lašu audzētavās.

Pētījumu veicām vairākos posmos: novērtējām epidemioloģisko situāciju, izmeklējot lašu smoltus dažādos audzēšanas apstākļos un pieaugušās zivis; veicām spuru audu bakterioloģisko analīzi; mākslīgi inficējām lašu mazuļus, lai pierādītu baktēriju patogenitāti.

Epidemioloģisko un klīnisko izmeklēšanu veicām Latvijas lašu mazuļu audzētavās un dabiskajā lašupē Salacā. Pieaugušo lašu spuru stāvokli novērtējām lašu mākslīgā nārsta punktā Vecdaugavā.

Spuru audu bakterioloģisko kontamināciju noteicām Latvijas Zivsaimniecības pētniecības institūta bakterioloģijas laboratorijā.

Lašu mākslīgo inficēšanu ar baktērijām *Aeromona salmonicida* un *A. hydrophila* veicām LZPI Akvakultūras laboratorijas akvāriju telpā.

Pētījumā izmantotie laši

Pētījumā izmantojām abu dzimumu dažādu vecuma grupu lašus. Klīniskais spuru stāvokļa novērtējums veikts 530 lašu mazuļiem no šķilšanās līdz smoltifikācijai un 218 pieaugušajiem lašiem, kuri atgriezties uz nārstu dzimtajā upē, ir nozvejoti Rīgas jūras līča piekrastes zonā un Daugavas grīvā. Spuru bakterioloģiskā izmeklēšana veikta 176 lašu mazuļiem. Eksperimentā, lai pierādītu *Aeromona salmonicida* un *A. hydrophila* ietekmi uz spuru nekrozes veidošanos, izmantoti 126 lašu mazuļi.

Pētījumā iekļautas dažādu vecumu zivis: lašu mazuļi, lašu viengadnieki, vienu gadu veci smolti, kā arī pieaugušie laši, kuri atgriežas uz nārstu. Zivju vecuma grupas ir iedalītas atbilstoši ICES (Starptautiskās jūras pētniecības komisijas) rekomendācijām: 1.) Lašu mazuļi no šķilšanās (martā, aprīlī) līdz nākamā gada februāra beigām – vienasaras lašu mazuļi (0+); 2.) vienu gadu veci lašu mazuļi, kuri vēl nav sasnieguši smolta stadiju – viengadnieki (1); 3.) vienu gadu veci lašu mazuļi, kuru organisms ir piemērots dzīvei sālsūdenī, ārēji redzamās pazīmes: zvīņas kļūst sudrabainas un izmainās plūdlīnijas forma – smolti; 4.) pieaugušie laši.

Promocijas darba vispārējā shēma

Izmeklējumus veicām vairākos posmos. Darba sākumā veicām klīniskā spuru stāvokļa izvērtējumu, izmērot spuru garumu, nosakot nekrozes pakāpi jeb spuras

zudumu un novērtējot nekrozes procesa attīstības stadiju. Pamatojoties uz šiem rādītājiem, izvērtējām spuru nekrozes izplatību (epidemioloģisko situāciju) Latvijā.

Epidemioloģiskās situācijas izvērtējumam analizējām audzētavās un dabiskā vidē iegūtos lašu smoltus, kā arī pieaugušos lašus, kuri atgriežas uz nārstu Daugavā. Lašiem, kuri tiek audzēti pilnībā kontrolētos apstākļos – baseinos, spuru stāvokli novērtējām visā to audzēšanas periodā.

Bakterioloģiskajai izmeklēšanai, lai konstatētu un identificētu spuru audos esošos patogēnos mikroorganismus, izvēlējamies zivis ar dažādas pakāpes un attīstības stadijas spuru bojājumiem.

Baktēriju patogenitātes novērtēšanu izdarījām, veicot mākslīgu lašu inficēšanu ar iepriekš izolēto baktēriju tīrkultūru. Eksperimenta gaitā veicām trīs pētījumu sērijas, katrā sērijā trīs eksperimentālās lašu grupas.

Epidemioloģiskā izmeklēšana

Epidemioloģiskās situācijas analīzi veicām, salīdzinot spuru nekrozes indeksu un attīstības stadiju lašu mazuļiem, kuri ir audzēti mākslīgos apstākļos: baseinos un dīķos. Rādītājus salīdzinājām ar dabiskā vidē – Salacas upē – dzīvojošiem lašu mazuļiem. Noteicām slimības izplatību pilnībā kontrolētos apstākļos audzētām zivīm četrās zivju audzētavās.

Lašu mazuļu spuru stāvokļa klīniskā izmeklēšana

Klīniski novērtējām lašu mazuļu un vaislinieku spuru stāvokli, mērījām spuru garumus, zivju svaru un garumu.

Klīniski izvērtējot spuru stāvokli, iedalījām to divās gradācijas klasēs: pirmā – spuru nekrozes pakāpe, otrā – spuru nekrozes procesa attīstības stadija.

Spuru nekrozes pakāpi noteicām pēc Moutou et al. (1998) aprakstītās metodikas atkarībā no tā, cik liela daļa no spuras ir noārdījusies, bet neatkarīgi no spuras fizioloģiskā stāvokļa. Apzīmējumus izvēlējamies pēc autora ieteiktā D (*damage*, no angļu val.). Ar D₀ – apzīmējam spuras, kurām bojājumus nenovēro, ar D₁ – spuras zudums līdz 30%, ar D₂ – spuras zudums ir no 30 līdz 70%, ar D₃ – spuras zudums vairāk kā 70%

Spuru nekrozes procesa attīstības stadijas sadalījām četrās grupās atkarībā no procesa attīstības gaitas, bet neatkarīgi no tā, cik liela spuras daļa ir zaudēta: VS – vesela spura, neskarti spuru stari un spuru plēve, AP – akūta progresējoša spuru nekroze, uz spuras dorsālās malas audu atmieksķēšanās redzama kā balta vai pelēcīga masa, dažreiz redzami asinsizplūdumi, Dz – dzīstoša spura, spuru staros sāk saviesties saistaudi, taču vietām vēl novēro asiņojošus laukumus, SD – spuru plēve un stari ir sadzijuši.

Lašu spuru bakterioloģiskā izmeklēšana

Bakterioloģiskajai analīzei spuru bojājumus iedalījām trijās grupās: pirmā – sadzijusi brūce un vesela spura, otrā – akūta progresējoša nekroze, trešā – spuras vietā izveidojusies čūla. Sadzijusi brūce – bojājuma vietā ir rētaudi, bet vesela spura – spuru stari un plēve bez redzamām slimības pazīmēm. Akūtās progresējošās nekrozes gadījumā spuru stari sabrukuši, mīkstie audi izšķīduši, uz spuru malas redzams pelēcīgi balts aplikums, smagākos gadījumos asiņošana. Trešajā grupā tās zivis, kurām spuras vietā izveidojusies čūla – ādas kopsakara traucējumi ar iekaisuma pazīmēm pie muguras spuras pamatnes, spuru stari var būt izkrituši.

Bakterioloģiskiem izmeklējumiem izvēlētās zivis novietojam uz ledus speciālā termosomā un iespējami īsākā laikā nogādājam laboratorijā (laiks ceļā bija no 30 min līdz 2 stundām). No spuru virsmas veicām nokasījumus uz sterila priekšmetstikliņa. No tiem veicām bakterioloģiskos uzsējumus uz specifiskajām barotnēm baktēriju kultivēšanai un sagatavojām natīvās uztriepes. Uztriepi nožāvējam, fiksējam liesmā un krāsojam pēc Gramma metodes. Nožāvējam un mikroskopējam, izmantojot imersijas eļļu (1000 reižu palielinājumā).

Baktēriju kultivēšanai izmantojam Difco barojošo agaru (Difco Nutrient agar), TSA agaru, Lab–Lemco barotni (Oxoid), Rimlera Shota agaru, citofāga agaru. Uzsējumus inkubējam 48 stundas 18–20°C (Quinn et al., 1998; Anonymus, 2010c). Baktēriju kopskaits 1 mg audu noteikts uz barojošā agara un citofāga agara barotnes Petri platēs. Pēc 48 stundu inkubācijas skaitījām šūnu kolonijas, sadalot tās pa grupām pēc makroskopiskā raksturojuma: kolonijas lielums, krāsa, virsmas struktūra. Izvēlējamies kolonijas, no kurām veicām tīrkultūras izolēšanu. Tad veicām uzsēto baktēriju tīrkultūras izdalīšanu un identifikāciju.

Baktēriju identifikācijai izmantojam pazīmju kopu – morfoloģiskās pazīmes (baktērijas forma, krāsošana pēc Gramma, citohromoksidāzes tests) un bioķīmiskās pazīmes – audzējot baktēriju tīrkultūras uz dažādām barotnēm, nosakot augšanu aerobos un anaerobos apstākļos. Bioķīmiskās reakcijas noteicām, inkubējot baktēriju tīrkultūru 24 stundas 30 °C. Pēc morfoloģisko un bioķīmisko pazīmju kopuma identificējam izolēto tīrkultūru, izmantojot API 20 E testu un tam atbilstošo datorprogrammu (Holt, 1994; Kinne, 1984; Decostere, et al., 1997; Quinn et al., 1998; Anonymus, 2010 c).

Eksperimentālā inficēšana

Eksperimentālo zivju inficēšanu ar patogēno aģentu (*Aeromonas hydrophila* un *A. salmonicida*) veicām Latvijas Zivju resursu aģentūras (LZRA) akvakultūras laboratorijas akvāriju telpā 2001. un 2002. gada vasarā.

Bioraudzei izmantojam Baltijas laša mazuļus, kas audzēti specializētās lašu audzētavas inkubatorā. Ikru inkubācijas laikā – izmantots tīrs avota ūdens, bagātināts ar skābekli. Pēc pārejas uz eksogēno barošanu, lašu mazuļi ēdināti ar firmas Aller Aqua ražoto granulēto barību SGP–493. Starta barošanai izmantotas 00 izmēra, vēlāk 0 izmēra pārsļas. Bioraudzei izvēlētās zivis bija klīniski veselas. Zivju transportēšanai

paredzētā tvertne tika pildīta ar avota ūdeni, kurā zivis ir inkubētas un augušas līdz eksperimenta sākumam.

Eksperimentam izmantojām stikla akvārijus ar zivju izvietojamo platību $0,5 \text{ m}^2$ katram. Akvārijus aprīkojām ar ūdens temperatūras regulētājiem un aeratoriem. Ūdens augstums akvārijos bija 30 cm, zivju daudzums 14 zivis uz m^2 . Akvārijos ievietojām zivis ar vidējo garumu $6 \pm 0,3$ cm, barojām ik pēc pusstundas no plkst. 8.00 līdz 21.00. Diennakts barības devu aprēķinājām pēc ražotāja ieteiktajām normatīvajām tabulām. Izmantojām firmas Aller Aqua granulēto barību SGP-493. Ūdens temperatūru uzturējām $18 \pm 1,3$ °C. Skābekli uzturējām 5 g/L un kontrolējām 2 reizes dienā ar oksimetru DO-300.

Pēc atvešanas no zivaudzētavas zivis aklimatizējām jaunajos apstākļos 10 dienas. Veicām trīs pētījumu sērijas, izmantojot dažādus inficēšanas veidus. Izveidojām 9 zivju grupas, katrā 14 laši ar vidējo garumu $6,0 \pm 0,3$ cm. Zivis līdz eksperimentam inkubētas un audzētas specializētajā lašu audzētavā, izmantojot avota ūdeni. Visas zivis bija ar sugai raksturīgu uzvedību un bez redzamām slimības pazīmēm. Pirms inficēšanas manipulācijām lašus anestezējām ar 2-metilhinolīnu (hinaldīnu), izmantojot vannošanas metodi. Anestēzijas līdzekļa deva 10 mg/L ūdens.

Pirmā pētījuma zivīm injicējām baktēriju suspensiju vēdera dobumā. Katrai eksperimentā iekļautajai zivij vēdera dobumā, netraumējot iekšējos orgānus, ar šļirci ievadījām baktēriju suspensiju 0,5 mL ar koncentrāciju $1,5 \times 10^4$ kvv. Eksperimenta grupu nosaukumu saīsinājumus veidoja pamatojoties uz inficēšanas veidu un baktērijas sugu. I-H (I – injekcija; H – *hydrophila*) grupas zivīm injicējām *A. hydrophila* baktēriju suspensiju, I-S (I – injekcija; S – *salmonicida*) grupas zivīm injicējām *A. salmonicida* baktēriju suspensiju, bet I-K (I – injekcija; K – kontrole) grupai injicējām 0,5 mL sterilu fizioloģisko šķīdumu.

Otrā pētījuma sērijas zivis vannojām baktēriju suspensijā: V-H (V – vannošana; H – *hydrophila*) 14 laši, kurus 24 h vannojām *A. hydrophila* baktēriju suspensijā $1,5 \times 10^4$ kvv / mL^{-1} un V-S (V – vannošana; S – *salmonicida*) 14 laši, kurus 24 h vannojām *A. salmonicida* baktēriju suspensijā $1,5 \times 10^4$ kvv / mL^{-1} . Kontroles grupā V-K (V – vannošana; K – kontrole) iekļautos lašus izturējām tīrā ūdenī, radot eksperimenta grupām līdzīgus apstākļus.

Trešā pētījuma zivīm pirms vannošanas baktēriju suspensijā, muguras spurā radījām brūci – veicām spuras daļas ekstirpāciju. Radušos brūci neapstrādājām ar antiseptiskiem līdzekļiem, tādējādi imitējot dabiski radušos brūci, zivij dzīvojot baseinā. Pēc operācijas zivis vannojām baktēriju suspensijā: VB-H (V – vannošana; B – brūce; H – *hydrophila*) 14 laši, kurus 24 h vannojām *A. hydrophila* baktēriju suspensijā $1,5 \times 10^4$ kvv / mL^{-1} un VB-S (V – vannošana; B – brūce; S – *salmonicida*) 14 laši, kurus 24 h vannojām *A. salmonicida* baktēriju suspensijā $1,5 \times 10^4$ kvv / mL^{-1} . Kontroles grupā VB-S (V – vannošana; B – brūce; K – kontrole) iekļautajiem lašiem veicām iegriezumu muguras spurā, pēc tam izturējām tīrā ūdenī, radot eksperimenta grupām līdzīgus apstākļus.

Katru dienu novērtējām visu zivju klīnisko stāvokli, mirušās zivis atlasījām un tām veicām bakterioloģisko un ihtiopatoloģisko izmeklēšanu.

Pētījuma statistiskā un matemātiskā datu apstrāde

Darbā iegūtos datus apstrādājām pēc vispārpieņemtām aprakstošās un secinošās statistikas metodēm, kas aprakstītas matemātiskās, bioloģiskās, medicīniskās un vispārējās statistikas literatūrā (Arhipova, Bāliņa, 1999 a, b). Darbam izmantojām datorprogrammas *SPSS* (firmas *SPSS Inc.*, *ASV* produkts) un *MS Excel*.

Spuru nekrozes indeksu aprēķinājām pēc formulas (Moutou et.al, 1998):

$$I_N = N^{-1} \sum_{n=0}^3 n_i D_i, \quad (1)$$

I_N – zivju grupas nekrozes indekss;

n – zivju skaits katrā spuru nekrozes pakāpē;

D – spuru nekrozes pakāpe;

N –kopējais zivju skaits grupā.

Spuru nekrozes indeksu aprēķinājām visai kopai atkarībā no dzimuma, vecuma, ūdens ieguves avota, no audzēšanas apstākļiem, nobarotības. Zivju kondīciju novērtējām, izmantojot zivsaimniecības praksē vispārpieņemto rādītāju – kondīcijas faktoru.

Zivju kondīcijas faktoru aprēķinājām pēc formulas:

$$K = \frac{M \cdot 100}{g^3}, \quad (2)$$

K –zivju kondīcijas faktors;

M – zivs svars (g);

g – zivs garums (cm).

Hipotēžu pārbaudei atbilstoši izvirzītajiem uzdevumiem un datu veidam izmantotas parametriskās un neparametriskās statistikas metodes.

Hipotēžu pārbaudēs raksturlielumu atšķirības vērtētas ar ticamību 95 %, 99 % un 99,5 %, kas atbilst būtiskuma līmenim attiecīgi $p = 0,05$; $0,01$ un $0,005$.

Iegūtajiem datiem aprēķinājām vidējos rādītājus un standartnovirzi. Vienas paraugkopas salīdzināšanai izmantots Stjudenta T –tests. Lai salīdzinātu smoltu un vaislai izmantojamo lašu spuru nekrozes pakāpes (spuru zuduma) atšķirības, izmantojām T –testu divu neatkarīgu paraugkopu salīdzināšanai (Arhipova, Bāliņa, 1999 a, b).

Izmantojām divfaktoru un daudzfaktoru korelācijas analīzi datu statistisko sakarību un to savstarpējā būtiskuma analīzei (Arhipova, Bāliņa, 1999a, b).

DARBA REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Spuru nekrozes epidemioloģiskās situācijas novērtējums Latvijā

Latvijā laši tiek audzēti slēgtās telpās – angāros, kuros ievietoti baseini un ārējā vidē – dīķos. Lai novērtētu spuru nekrozes sastopamību lašiem dažādās ūdenstilpēs, datu salīdzināšanai izmantojām vienu gadu vecus lašu smoltus.

1. tabula/Table 1

Spuru nekrozes indekss smolciem dažādās ūdenstilpēs Index of smolt fin necrosis in different watercourse

Rādītāji/ Indices	Baseinos Tanks (n=91)	Dīķos Ponds (n=100)	Upē River (n=78)
Zivs garums/ Fish lengths (L _S) (cm) $\bar{x} \pm s_{dev}$	13.19 $\pm$ 8.35	11.01 $\pm$ 9.02	14.91 $\pm$ 7.42
Muguras spura Dorsal fin	2.19	0.06	–
Labā krūšu spura Right pectoral fin	0.69 ^a	–	–
Kreisā krūšu spura Left pectoral fin	0.81 ^a	–	–
Labā vēdera spura Right ventral fin	0.04 ^b	–	–
Kreisā vēdera spura Left ventral fin	0.06 ^b	–	–
Anālā spura Anal fin	0.06	–	–
Astes spura Caudal fin	0.0	–	–

„–” spuru nekroze nav novērota/fin necrosis is not observed

^a– labās un kreisās krūšu spuras nekrozes indeksam nav būtiskas atšķirības/ no significant differences between index of necrosis of right and left pectoral fin ($\alpha=0,47$)

^b– labās un kreisās vēdera spuras nekrozes indeksam nav būtiskas atšķirības / no significant differences between index of necrosis of right and left ventral fin ($\alpha=0,32$)

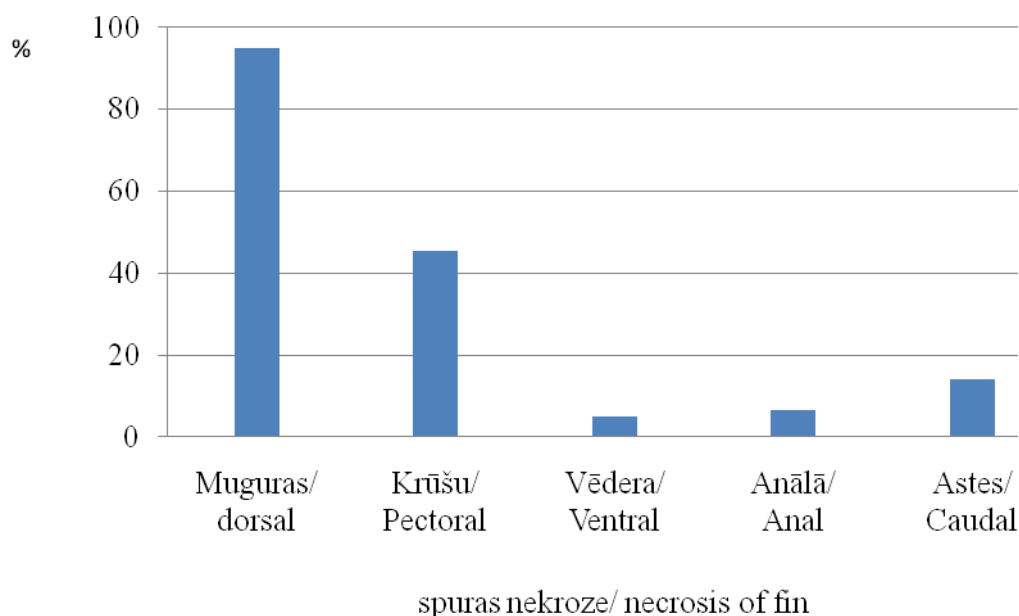
Katrai zivij spuru stāvoklis ir atšķirīgs. Dīķos audzētiem un dabiskajiem smolciem spuru nekrozi un spuru patoloģijas nenovērojām. Spuru proksimālie gali smaili, spuru plēve piestiprināta stariem. Daudziem baseinos audzētiem lašu smolciem ir raksturīgas lielākas vai mazākas spuru patoloģijas: gan pilnīgi veselas spuras, gan lielākā vai mazākā mērā zaudētas, tāpēc aprēķinājām spuru nekrozes indeksu. Baseinos audzētiem lašiem, sasniedzot smolta vecumu visaugstākais spuru nekrozes indekss (NI) ir muguras spurai (2,19), bet viszemākais ir vēdera spurai, attiecīgi 0,04 un 0,06. Astes spuras nekrozi pētījumu grupā nenovērojām (1. tab.).

Pāra spuru zudums smolciem ir izveidojies asimetriski un ir novērojams vienā vai abās spurās, rezultātā NI vēdera labajai un kreisajai spurai ir atšķirīgs, līdzīgi arī krūšu labajai un kreisajai spurai. Kopumā kreisajā ķermeņa pusē esošajām pāra

spurām NI ir augstāks nekā labajā pusē, bet tomēr nav būtiskas atšķirības starp bojājumu pakāpi starp labo un kreiso krūšu spuru NI ($p>0,05$) un starp vēdera spuru NI ($p>0,05$) (1. tab.). Turnbull (1998) savos pētījumos ir pierādījis, ka lašiem visbiežāk tiek traumēta muguras un kreisā krūšu spura. Interesanti bija uzzināt, ka Nigērijā dzīvojošas zivju sugas *Synodontis schall* (Teleostei) kreisā krūšu spura nekrozes ietekmē ir būtiski īsāka par labo spuru (Araoye 2000). Mums nav zināms Turnbull (1998) un Araoye (2000) viedoklis par to, kāpēc veidojas šāda situācija. Uzskatām, ka Latvijas zivjaudzētavās labās un kreisās krūšu spuras NI atšķirība rodas specifiskās ūdens cirkulācijas dēļ. Laši tiek audzēti baseinos, kur ūdens plūst pa apli, laši instinktiīvi peld pret straumi. Pārvietošanās laikā, lai noturētu līdzsvaru un ieturētu pārvietošanās virzienu, krūšu spuras ir plati atplestas un ūdens pretestība uz abām spurām nav vienāda.

Dīķos audzētiem lašu smolliem spuru nekroze bija tikai divos gadījumos un skarta vienīgi muguras spuru, pie tam patoloģija bija izteikta D₁ pakāpē – tas nozīmē, ka spuras zudums ir mazāks par 30 %. Pārējās spuras nebija skartas, un nekādus attīstības defektus vai patoloģiskus procesus spurās nenovērojām. Uzskatām, ka daļējais spuras zudums dīķu zivīm radies iepriekšējā gadā, drīz pēc šķilšanās, kad lašu mazuļi tika turēti baseinos, vēl pirms izlaišanas dīķos.

Dabiskā nārsta mazuļiem spuru nekrozi nenovērojām nevienā no izvērtētajiem gadījumiem. Arī Skotijā dabiskā nārsta lašiem nenovēro spuru nekrozi (Turnbull et al., 1993; Turnbull et al., 1996).

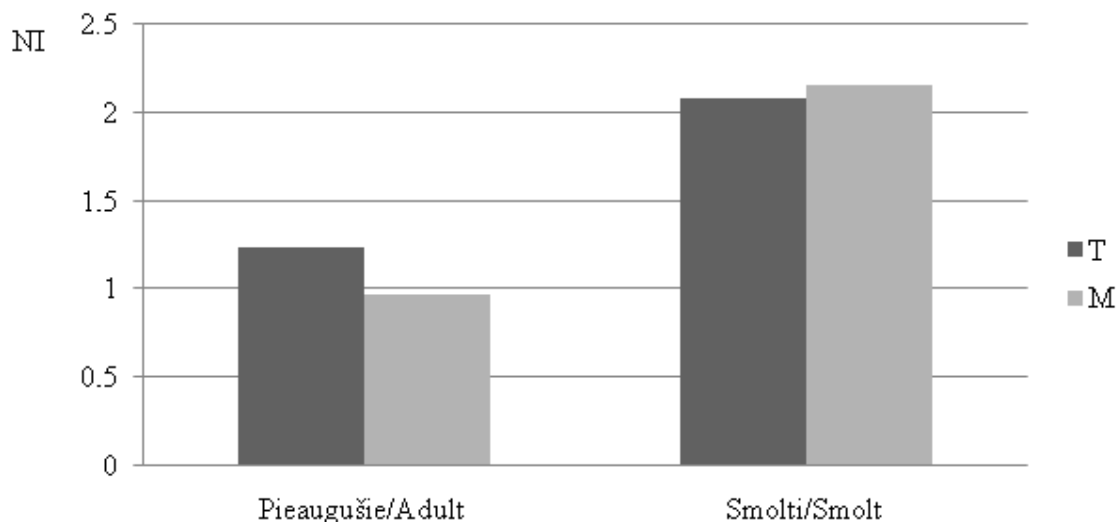


1. att. Ar spuru nekrozi slimi laši Latvijas zivju audzētavu baseinos (% no kopējā zivju skaita)

Fig. 1. Salmon with fin necrosis in tanks of Latvia fish farms (% diseased fish of total fish number)

Zivju audzētavās Atlantijas lašiem (*Salmo salar*) vismazāk skartā ir anālā un astes spura gan Turnbull et al. (1998 a, b), gan mūsu pētījumā – vēdera un anālā spura.

MacLean u.c. (2000) savos pētījumos par muguras spuras nekrozi konstatēja, ka to sastop no 60 līdz 90 % zivju, Turnbull et al. (1996) pētījumos – 93,8 % zivju. Arī mūsu pētījumā muguras spura ir skarta – 95,0 % lašu mazuļu (1.att).



2. att. Pieaugušo lašu un smoltu muguras spuras nekrozes indekss atkarībā no dzimuma

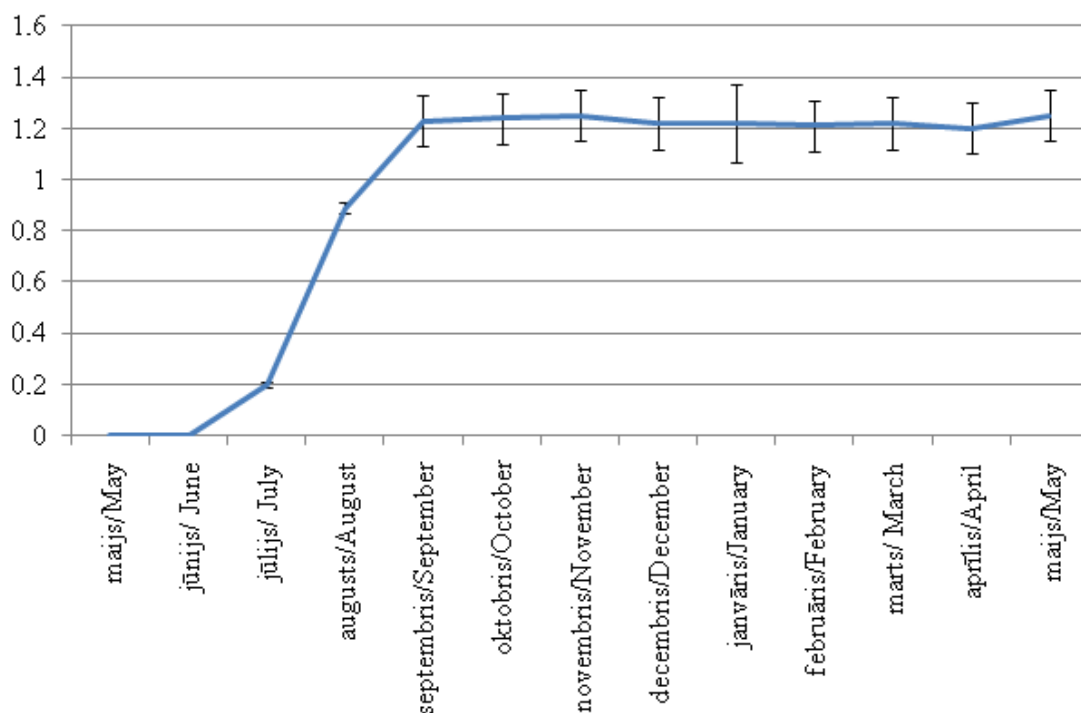
Fig. 2. Index of fin necrosis of adult salmon and smolt in dependence of sex

T – vīrišķā dzimuma laši/ male

M – sievišķā dzimuma laši/ female

Pieaugušajiem sievišķā dzimuma lašiem spuru nekrozes indekss ir 1,24, vīrišķā dzimuma lašiem – 0,97 (2. att) turpretī smoltiem tas attiecīgi ir 2,08 un 2,16. Pieaugušajiem lašiem spuru nekrozes indekss ir mazāks nekā smoltiem, tas nozīmē, ka smoltiem ir biežāk reģistrēta spuru nekroze un smagākā attīstības pakāpē nekā pieaugušajām zivīm (2. att.). Tas liecina par lašu mazuļu izdzīvošanas iespējām pēc to izlaišanas dabiskā vidē. Izdzīvo imunoloģiski spēcīgākie un fiziski labāk attīstītie īpatņi. Tā kā nav zināms vai vaislinieku nozvejā tiek noķerti mākslīgi audzētie vai arī dabiskā nārsta laši, nav iespējams aprēķināt izlaisto lašu atgriešanās daudzumu. Literatūrā datus par smoltu un pieaugušo lašu NI salīdzinājumu mums neizdevās atrast.

Novērtējot spuru nekrozes attīstības gaitu zivju audzētavu baseinos, konstatējām, ka jūnijā visiem lašu mazuļiem spuras ir veselas un nekrozes pazīmes nenovēro (3. att.). Jūlija sākumā spuru nekroze sāk parādīties tikai dažām zivīm. Skarto zivju daudzums un spuru zuduma daudzums strauji attīstās, sākot ar jūlija vidu. To redz pēc NI (3. att.), kas aprēķināts, ņemot vērā visu spuru (muguras, krūšu, vēdera, anālās un astes) klīnisko stāvokli. Sākot no septembra līdz nākamā gada pavasarim NI vairs būtiski nemainās un kopumā ar nelielām svārstībām saglabājas ap 1,2. Skotijā mākslīgi audzētajiem lašiem spuru traumatisms un nekroze visvairāk ir izteikts augustā (MacLean et al., 2000), bet mūsu pētījumā – jūlijā. Domājam, ka tas ir saistīts ar audzēšanas procesa iespējamajām atšķirībām, kā arī ūdens temperatūras, līdz ar to arī bakteriālā piesārņojuma atšķirībām Latvijā un Skotijā.



3. att. Lašu spuru nekrozes sastopamība (NI) zivju audzētavās gada griezumā
Fig.3. Incidence of fin necrosis (NI) in fish farms around the year

Spuru nekrozes klīniskais novērtējums

Veselas, pareizi attīstītas lašu spuras ir ar skaidri redzamiem spuru stariem (*radii pinnae*), kurus apņem spuru plēve (*pellicula pinnae*). Spuru plēve ir piestiprināta staru skeletam un ir nedaudz gaišāka par ķermeņa ādu. Spuras distālā mala visām spurām ir tumšāka nekā bazālā. Lašu mazuļiem (0+) spuru plēve ir caurspīdīga, labi redzami spuru stari. Augšanas laikā *pellicula pinnae* kļūst tumšāka, jo izgulsnējas pigmenti un biezāka, līdz ar to stari vairs nav tik labi saskatāmi. Pieaugušiem lašiem spuru plēve ir bieza, atgādina ādas struktūru, spuru stari nav saskatāmi.

Spuras lielums ir atkarīgs no zivs lieluma, jo spuras aug kopā ar zivi un lielākām zivīm spuru pirmais stars ir garāks nekā mazākām tā paša vecuma zivīm. Tādēļ, lai novērtētu cik daudz spura ir samazinājusies patoloģiskā procesa ietekmē, vispirms noteicām spuru pirmā stara un zivs garuma attiecības (2. tab.).

Veselās muguras spuras pirmā stara garums dabiskā nārsta lašiem ir virs 11,9 % , baseinā audzētajiem– 12,8 % (2. tab.), bet dīķos 12,9 % no zivs garuma. Upē dzīvojošām zivīm muguras spuras pirmā stara procentuālā attiecība pret garumu ir būtiski mazāka nekā baseinu ($p < 0,001$) un dīķu ($p < 0,05$) lašiem. Krūšu spuru garums ir būtiski atšķirīgs visu grupu lašiem. Vismazākās atšķirības starp grupām novērojamas vēdera spuras garuma attiecībai pret ķermeņa garumu. Dabiskā nārsta lašu mazuļiem gandrīz visas spuras ir lielākas, tas saistīts ar zivju dzīvesveidu. Lašu mazuļi dzīvo un barojas upju krācēs. Līdz ar to upē dzīvojošās zivis nepārtraukti atrodas spēcīgā straumē, tāpēc patērē vairāk enerģijas un ir slaidākas, garākas nekā dīķos un baseinos dzīvojošie lašu mazuļi. Dīķu caurplūde ir lēna un straume neveidojas, tāpēc lašu mazuļiem nav jātērē enerģija, lai noturētos pret straumi.

Baseinos dzīvojošām zivīm straume tiek mākslīgi radīta, tomēr zivīm ir pietiekoši daudz barības un nav jātērē lieka enerģija barības ieguvei – zivis ir īsākas, resnākas.

2. tabula/Table 2

Veselu lašu smoltu spuru garuma procentuālā attiecība pret zivs garumu
Percentage relation of fin and fish length of health salmon smolt
($\bar{x} \pm sdev$)

Rādītāji Indices		Baseini Tanks	Dīķi Ponds	Upe River	Vidējo rādītāju starpība Difference of mean indices		
					Baseini dīķi Tanks ponds	Dīķi Upe Ponds river	Upe baseini River ponds
Spuras pirmā stara garums /Length of first fin ray(cm)	muguras dorsal	12.8 ± 2.33	12.9 ± 2.81	11.9 ± 1.77	-0.1	1.0*	-0.9***
	krūšu pectoral	1.5 ± 0.55	1.6 ± 0.24	2.3 ± 0.31	-0.1**	-0.7***	0.8***
	vēdera ventral	1.2 ± 0.28	1.2 ± 0.13	1.5 ± 0.20	0	-0.3***	0.3
	anālā anal	1.3 ± 0.29	1.0 ± 0.15	1.3 ± 0.19	0.3	-0.3***	0*

*rādītājs ir statistiski būtisks pie $p < 0,05$ / significant difference $p < 0,05$

**rādītājs ir statistiski būtisks pie $p < 0,01$ / significant difference $p < 0,01$

***rādītājs ir statistiski būtisks pie $p < 0,001$ / significant difference $p < 0,001$

Klīniski izvērtējot spuras lašu mazuļiem, noskaidrojām, ka lašiem dzīves sākumā spuru plēve ir plāna un viegli traumējama. Baseinos audzētajiem lašu mazuļiem (0+) vasaras otrā pusē spurās ir redzamas patoloģiskas izmaiņas. Taču ne visi spuru bojājumi izskatās vienādi. Ir spuras ar traumētiem spuru stariem, ar baltu vai pelēcīgu aplikumu, ar veidotiem rētaudiem un ar asiņojumiem. Tādēļ spuras patoloģijas jeb bojājumus iedalījām vairākās grupās: vesela spura; akūta progresējoša spuru nekroze; izveidojusies asiņojoša čūla; sadzijusi spura.

Akūta progresējoša spuru nekroze ar aplikumu spuras proksimālajā malā. Šajā grupā iedalījām zivis, kurām pēc klīniskām pazīmēm nekrozes process progresē, bet skarta ir tikai spura. Dažām zivīm nekrozes process bija tikko sācies: spuras stūris vai mala ir ar pelēcīgi baltu vai baltu aplikumu un zudušiem spuras staru galiem, dažām nekroze bija skārusi lielāko spuras daļu, bija labi redzams nekrotisko audu aplikums.

Otrā grupā ir zivis, kurām spuru nekroze ir attīstījusies tik tālu, ka ir izkrituši spuru stari, nekroze ir skārusi ādu un muskulatūru un izveidojusies asiņojoša čūla. Izkritušus spuru starus atradām tikai muguras spuras nekrozes gadījumā.

Trešā grupa – laši, kuriem ir bijusi spuru nekroze, bet izmeklēšanas laikā jau ir sadzijusi. Spuras distālā mala gluda, dažreiz redzami rētaudi, spuru stari noapaļoti. Dažām zivīm novērojām spuru malformāciju. Šādu patoloģiju visbiežāk novērojām muguras spurām.

Ceturtā grupa – zivis ar veselām, neskartām spurām. Spuru stari distālajā malā asi, spuru plēve pievienota abiem blakusesošajiem spuru stariem.

Lielākajai daļai baseinā audzēto lašu vispārējais veselības stāvoklis bez redzamām izmaiņām, reakcija uz kairinājumu (dažādiem stresoriem vai barību) parasta. Tikai dažām no izmeklētajām zivīm bija vispārējās septicēmijas pazīmes; acu gļotāda sarkana, asiņojumi pie spuru pamatnes.

Nekroze sākas no spuras distālās malas. Sākumā parādās audu atmiekšķēšanās vienā vai vairākās vietās. Simptomam attīstoties, visa spuras mala kļūst gaiša ar atmirušo audu masu. Nekrozes process turpinās virzienā uz spuras proksimālo daļu, līdz parādās ādas kopsakara traucējumi, kur vēlāk, izkrītot cietajiem muguras spuras stariem, attīstās čūlas, kas var būt 2–2,5 cm garas un 0,5 cm dziļas t.i., pat līdz 10 % no zivs garuma. Šajā stadijā zivis var iet bojā. Izzdīvojušajām zivīm čūlas dzīst, veidojot audu hiperplāziju.

Pieaugušajiem lašiem progresējošu spuru nekrozi nenovērojām, tomēr bija spuras, kurām pēc nekrozes izveidojušās spuru kroplības. Visbiežāk tas bija spuras vai tās daļas zudums. Lašu vaisliniekiem patoloģijas novērojām tikai muguras spurām. Nevienam no pieaugušajiem lašiem nenovērojām krūšu, vēdera, anālās vai astes spuras patoloģijas.

Zivju vecums saskan ar audzēšanas sezonu. Laši vienmēr šķiļas pavasarī un sasniedz viengadnieka smolta stadiju nākamajā pavasarī, tāpēc zivju vecums ir cieši saistīts ar sezonālītāti. Vasarā zivju dzīve noris aktīvāk, paātrinās vielu maiņa, pieaug barības uzņemšanas intensitāte, palielinās arī saslimstības risks.

Viņvasaras mazuļiem akūta progresējoša muguras spuras nekroze ir reģistrēta 62,5 % gadījumu (3. tab.), bet lašu mazuļiem viengadniekiem – 10,26 % gadījumu. Smolciem akūtu progresējošu nekrozi nenovērojām. Zivis īsi pirms smoltifikācijas vai nu iet bojā vai arī spuras sadzīst. Domājams, ka slimām zivīm smoltifikācija nenotiek. Sadzījuši muguras spura viņvasaras mazuļiem ir tikai 3,13 % gadījumu, turpretī smolciem ir 72,41 % gadījumu. Laši viengadnieka vecumu sasniedz martā, aprīlī, tas ir ļoti tuvu smoltifikācijas periodam, šajā vecuma grupā lielākajam lašu daudzumam ir sadzījušas muguras (58.98 %) un krūšu (34,6 %) spuras (3. tab.).

Lašu spuru nekrozes attīstības stadija dažāda vecuma zivīm (%)
Progression phase of fin necrosis in salmon of various age (%)

Zivju vecuma grupa Fish age	Spuru nekrozes attīstības stadija Progression phase of fin necrosis	Spura Fin				
		Muguras Dorsal	Krūšu Pectoral	Vēdera Ventral	Anālā Anal	Astes Caudal
Vienvasaras mazuļi Salmon parr (0+)	VS	6.25	68.75	95.31	81.25	62.50
	AP	62.5	14.06	–	–	6.25
	Dz	28.13	9.37	–	6.25	9.38
	SD	3.13	7.81	4.69	12.50	21.88
Lašu viengadnieki Salmon parr (1)	VS	5.13	53.85	98.72	100.00	94.87
	AP	10.26	2.56	–	–	–
	Dz	25.66	8.97	–	–	–
	SD	58.98	34.62	1.29	–	5.13
Smolti Smolt	VS	–	70.69	98.28	100.00	100.00
	AP	–	3.45	–	–	–
	Dz	27.59	6.90	–	–	–
	SD	72.41	18.97	1.73	–	–

„–” pētījuma grupā pazīme nav novērota/ sign is not observed

Aprēķinot nekrozes indeksu un analizējot situāciju zivju audzētavās baseinos audzētiem lašiem (4.tab.), redzam, ka muguras spuras nekrozes indekss (NI) visās trijās vecuma grupās ir augstāks nekā krūšu, vēdera, anālās un astes spuru NI.

Visaugstākais muguras spuras NI ir lašu viengadniekiem un smolciem, pie tam tas ir būtiski augstāks ($p < 0,05$) nekā vienvasaras mazuļiem (4. tab.). Muguras spuras NI indeksa samazināšanās smolta stadijā notiek tādēļ, ka jau līdz smoltifikācijai un tās laikā smagāk slimās zivis mirst, līdz ar to statistiski spuru nekrozes indekss ir mazāks.

Krūšu spuras nekrozes indekss augstāks ir smolciem un būtiski atšķiras ($p < 0,05$), salīdzinot ar vienu vasaru un vienu gadu veciem lašiem (4. tab.). Nozīmīgi, ka smolciem nekrozes skartie spuru audi bieži vien jau ir sadzijuši.

Vēdera un anālās spuras NI ir viszemākais visās vecuma grupās, jo šīs spuras ir visvairāk pasargātas no traumēšanas.

Astes spura ir vissvarīgākais lokomotorais orgāns zivs kustības nodrošināšanā. Vienvasaras mazuļiem astes spuras NI ir 0,9 un ir būtiski augstāks ($p < 0,05$) nekā lašiem viengadniekiem. Smolciem astes spuras nekroze nav novērota (4. tab.).

4. tabula/Table 4

Spuru nekrozes indekss baseinos audzētiem lašiem atkarībā no zivju vecuma
Index of fin necrosis in pond rearing salmon of various age

Rādītāji Indices		Zivju vecuma grupa Fish age			Starpība Difference		
		0+	1	1–S	(0+): (1)	(1):(1–S)	(0+):(1–S)
Spura/ Fin	Muguras Dorsal	0.86	2.43	2.19	–1.57***	0.24*	–1.33***
	Krūšu Pectoral	0.25	0.35	0.74	–0.10*	–0.39*	–0.49*
	Vēdera Ventral	0.06	0.04	0.05	–0.02	–0.01	0.01
	Anālā Anal	0.06	0.05	0.05	0.01	0	0.01

*rādītājs ir statistiski būtisks pie $p < 0,05$ / significant difference $p < 0,05$

**rādītājs ir statistiski būtisks pie $p < 0,01$ / significant difference $p < 0,01$

***rādītājs ir statistiski būtisks pie $p < 0,001$ / significant difference $p < 0,001$

5. tabula/Table 5

Lašu spuru nekrozes indekss atkarībā no dzimuma
Index of fin necrosis in salmon in dependence of sex

Rādītāji Indices	Spuņu nekrozes indekss Index of fin necrosis		Starpība Difference	p – vērtība p – value
	Sievišķā dzimuma laši Female	Vīrišķā dzimuma laši Male		
Muguras spura Dorsal fin	2.04	2.2	0.16	0.66
Labā krūšu spura Right pectoral fin	0.17	0.34	–0.17	0.05
Kreisā krūšu spura Left pectoral fin	0.31	0.44	–0.13	0.22
Labā vēdera spura Right ventral fin	0.02	0.05	–0.03	0.35
Kreisā vēdera spura Left ventral fin	0.02	0.05	–0.03	0.82
Anālā spura Anal fin	0.04	0.04	0	0.70
Astes spura Caudal fin	0.17	0.22	–0.05	0.97

*rādītājs ir statistiski būtisks pie $p < 0,05$ / significant difference $p < 0,05$

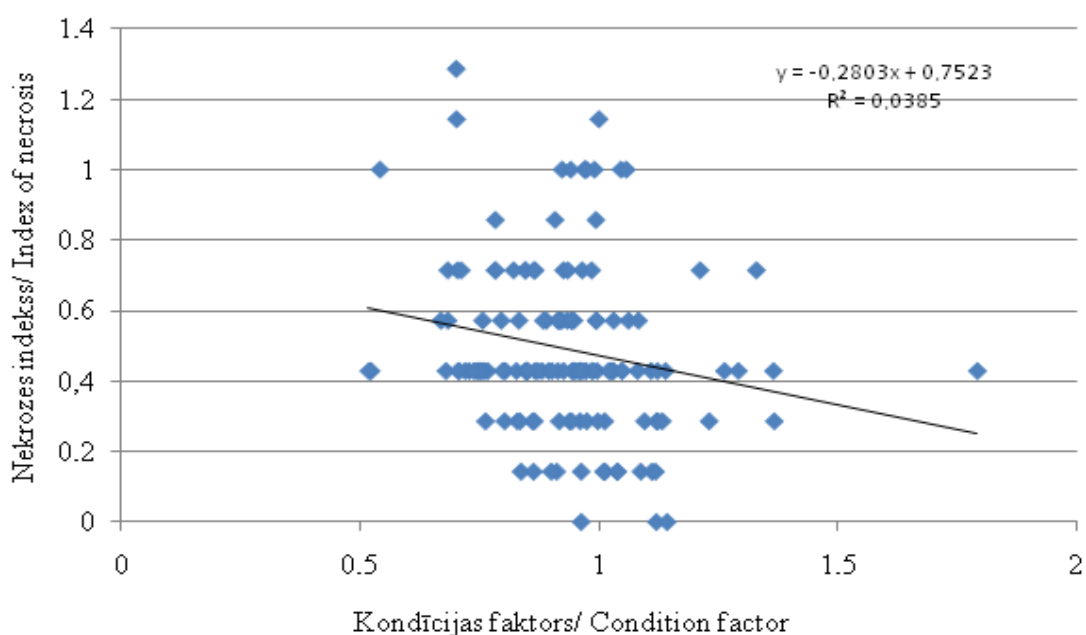
**rādītājs ir statistiski būtisks pie $p < 0,01$ / significant difference $p < 0,01$

***rādītājs ir statistiski būtisks pie $p < 0,001$ / significant difference $p < 0,001$

Lašu atražošanā būtiski dabiskā vidē izlaist veselus, dzīvotspējīgus abu dzimumu smoltus, tādēļ pētījumā novērtējām spuru nekrozes indeksu atšķirības atkarībā no zivs dzimuma (5. tab.). Konstatēts, ka visi rādītāji vīrišķā dzimuma lašiem ir nedaudz augstāki, taču, aprēķinot atšķirības būtiskumu, pārsteidz iegūtais rezultāts (5. tab.). Visaugstākais NI ir muguras spurai gan vīrišķā, gan sievišķā dzimuma īpatņiem, bet būtiski neatšķiras ($p < 0,05$) starp dzimumiem.

Salīdzinot NI starp dzimumiem pie ticamības $P = 95 \%$, nav būtiskas atšķirības starp dzimumiem vēdera un anālās spuras nekrozes gadījumā ($p > 0,05$) (5. tab.).

Atšķirīgi dati ir iegūti citu autoru pētījumos. Karpveidīgajām zivīm (*Carrasius auratus*) vīrišķajiem īpatņiem ir būtiski mazāk izteikta spuru nekroze nekā sievišķajiem (Sharples et al, 1994). Turpretī butēm (Lang et.al., 1998) sievišķajiem īpatņiem ir mazāk izteikta spuru nekroze nekā vīrišķajiem. Sharples et al. (1994), Lang et.al. (1998) un mūsu pētījuma dati atšķiras, jo ir pētītas dažādu sugu zivis, kuras dzīvo atšķirīgos biotopos.



4. att. Muguras spuras nekrozes indekss atkarībā no kondīcijas faktora
Fig. 4. Index of dorsal fin necrosis in salmon in dependence
of condition factor (n=142)

Lašiem jābūt slaidiem, ar labi izteiktu plūdlīnijas formu, tāpēc spuru nekrozes indeksu aprēķinājām atkarībā no zivju kondīcijas faktora (svara un garuma attiecības). Mākslīgi audzētajiem lašiem K (kondīcijas faktors) svārstījās no 0,52 līdz 1,79, individuālais visu spuru nekrozes indekss no 0 līdz 1,3 (4.att.).

Lielbritānijā (Skotijā) spuru bojājumu pakāpe lašiem ir cieši saistīta ar zivju izmēru. Lielākām zivīm spuru bojājumus novēro sešas reizes biežāk, nekā mazākām zivīm (MacLean et al., 2000). Mūsu pētījumā veiktie sakarību pārbaudes rezultāti

liecina par to, ka spuru nekrozes indekss nedaudz samazinās zivīm ar lielāku kondīcijas indeksu. Tomēr sakarība starp minētajām pazīmēm ir ļoti vāja, gandrīz neeksistējoša: determinācijas koeficients R^2 ir 0,0385 un korelācijas koeficients r ir $-0,21$.

Lašu spuru patoloģiskā materiāla bakterioloģiskā analīze

Bakterioloģisko izmeklēšanu veicām regulāri visā lašu audzēšanas periodā, vadoties pēc spuru nekrozes attīstības stadijas un pakāpes: I) akūta progresējoša spuru nekroze ar aplikumu spuras proksimālajā malā, kas sasniegusi D_1 un D_2 attīstības pakāpi (akūta nekroze D_1 , D_2); II) nekroze ir skārusi ādu un muskulatūru, ir izveidojusies asiņojoša čūla (izveidojusies čūla D_3); III) vesela spura un sadzijusi spura, kuras distālā mala gluda, spuru stari smaili (vesela spura).

Dzīvo baktēriju skaitu spuras audos izteicām kā kolonijas veidojošo vienību skaitu uz mg audu masas (kvv/mg), kas nozīmē to, ka redzamo koloniju daudzums, kas ir saskaitīts uz Petri plates, ir attiecināms uz visu paraugu.

Baktērijas izolējām gan no veselām, gan slimām spurām, taču izolēto mikroorganismu daudzums ievērojami atšķiras. Spuru audu bakteriālais piesārņojums veselām zivīm bija ievērojami mazāks nekā slimām ar spuru nekrozi. Vismazākais mikroorganismu skaits izolēts no veselām spurām ($7,5 \times 10^3$ kvv) pie tam jāņem vērā, ka dažos gadījumos no veselajām spurām mikroorganismi vispār netika izolēti. Ja zivs ir vesels, tās ādas dziedzeri izdala gļotas, kam piemīt baktericīdas īpašības, un tādējādi uz ādas nonākušie mikroorganismi tiek iznīcināti (5.att.).

Izolēto baktēriju skaits gadījumos, kad nekroze skārusi spuras plēvi un starus, bija ievērojami mazāks ($7,3 \times 10^4$ kvv), nekā tām zivīm, kurām jau ir izveidojušās čūlas ($1,4 \times 10^5$ kvv) (5.att.). Vislielākais baktēriju daudzums izolēts no zivīm, kurām spuru stari ir izkrituši un ir izveidojusies čūla.

Mūsu pētījumi parāda, ka spuru audu mikrobiālais spektrs ir visai plašs un pie visām spuru bojājuma pakāpēm starp izolētajiem mikroorganismiem bija gan nepatogēnās grampozitīvās, gan patogēnās gramnegatīvās baktērijas. Uz veselām spurām dominējošās bija grampozitīvās baktērijas, bet akūtas, progresējošas nekrozes un čūlas gadījumā – gramnegatīvās. Salīdzinot šos rādītājus, noskaidrojām, ka veselām spurām izolētās patogēnās baktērijas ir 8,1 % gadījumu, turpretim slimām spurām šo gadījumu skaits ir ievērojami lielāks – 88,1 % pie akūtas progresējošas nekrozes un 93,9 % pie izveidojušās čūlas.

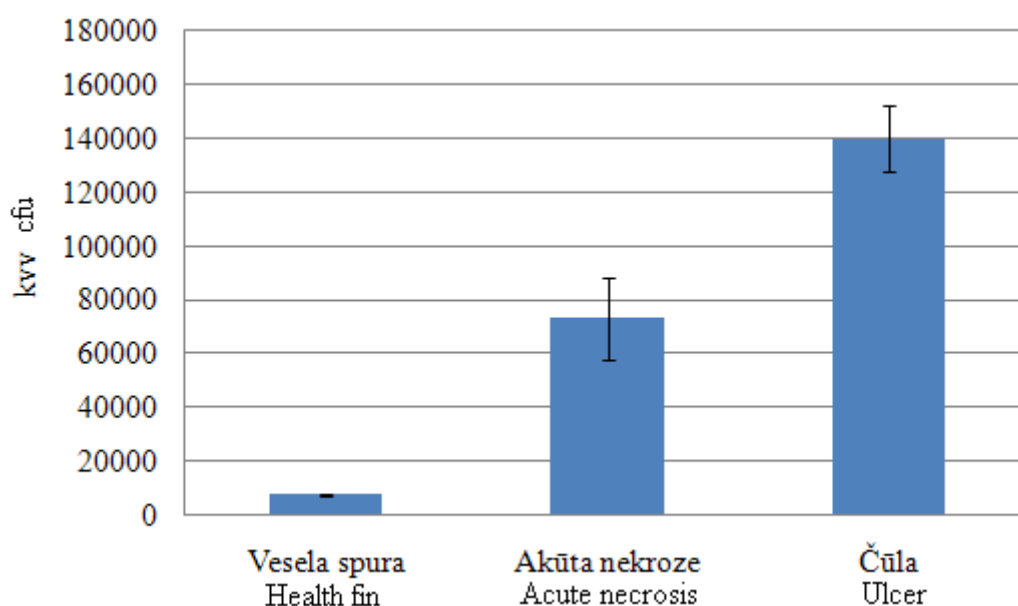
Minētajos spuru paraugos no gramnegatīvo mikroorganismu ģintīm dominē *Aeromonas spp.* (vairāk kā 80 % gadījumu), daudz retāk sastopamas *Favobacterium spp.* un *Pseudomonas* ģints baktērijas. *Pseudomonas fluorescens* ir izolēta tikai no slimajiem audiem, bet gadījumos, kad spuras ir veselas, nav atrasta.

Apskatot baktērijas kā spuru nekrozes etioloģisko faktoru, noskaidrojām, ka dažādās valstīs no spurām ir izolētas *Pseudomonas fluorescens*, *P. anquilliseptica* u.c. (Khan et al., 1981; El Altara et al., 1996), *A. salmonicidae* (Turnbull, 1996), *Vibrio spp.* (Khan et al., 1981). Khan et al. (1981), no spuru nekrozes skartajiem audiem dabiskā vidē dzīvojošām mencām izolēja *Pseudomonas*, *Aeromonas* un *Vibrio* ģints baktērijas, kas pēc autoru domām izsauc spuru nekrozi un zivju mirstību līdz 52 %.

Salīdzinot gadījumu skaitu, kuros ir izolētas patogēnās baktērijas, izrādījās, ka visizplatītākās ir *Aeromonas* ģints baktērijas, izolējām baktēriju sugas: *A. hydrophila* un *A. salmonicida*. Akūtas progresējošas spuru nekrozes gadījumā dominē *A. hydrophila* gan uz tām spurām, kurām skarti tikai spuru stari un plēve, gan arī uz spurām, kuru vietā jau izveidojusies čūla. Gadījumos, kad ir izveidojusies čūla, daudz biežāk izdalījām *A. salmonicida* (45,2 % gadījumu) nekā gadījumos, kad čūla vēl nav izveidojusies. Mūsu pētījumā abas minētās baktērijas izolētas no spuru bojātajiem audiem. Augstais izolēto *A. hydrophila* gadījumu īpatsvars liecina par šo mikroorganismu augsto patogenitāti un spēju ierosināt saslimšanu.

Aeromonas spp. ir visplašāk sastopamās baktērijas ūdens sedimentā (Mateos et al., 1992; Gonzalez et al., 2001), tāpēc tām ir liela iespējamība nonākt zivju audzētavā.

Aeromonoze ir bīstama infekcijas slimība, kas izraisa daudzu sugu zivju saslimšanu. Slimību izraisa patogēnās *Aeromonas* ģints baktērijas, kuras var atrast gan jūras ūdenī, gan saldūdenī (Hazen et al., 1978; Paniagua et al., 1990; Mateos et al., 1992; Kawula et al., 1996; Gonzalez et al., 2001; Nielsen et al., 2001; Sechi et al., 2002). Ūdenī ar augstu piesārņojumu baktērija saglabājas ilgu laiku, bet tīrā ūdenī ātri iet bojā, tāpēc attīrot ūdeni pirms ievadīšanas zivaudzētavā ir iespējams samazināt zivju saslimšanas risku.

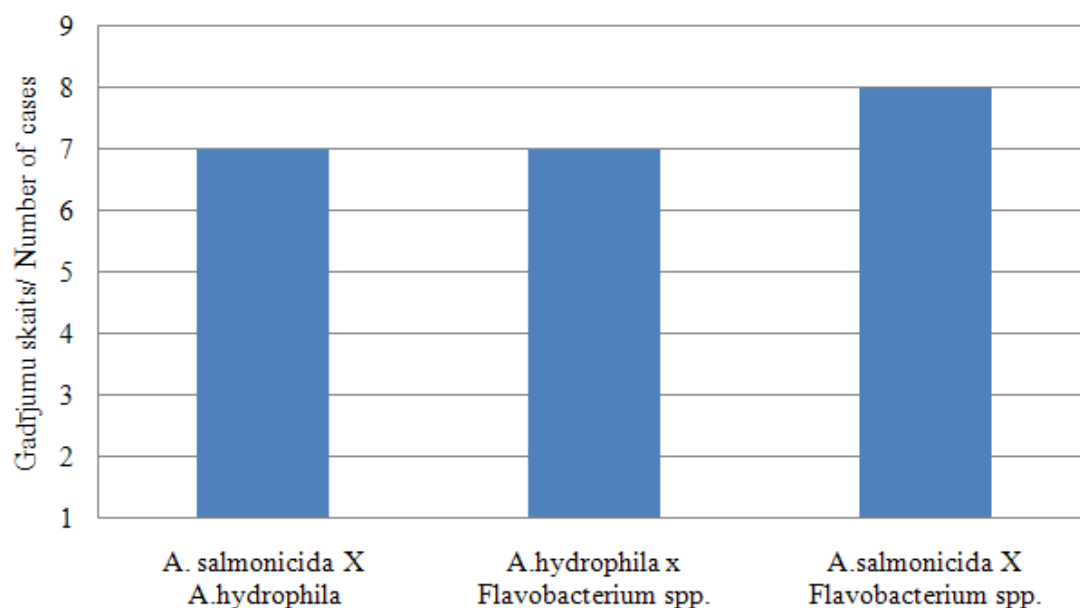


5. att. Izolēto baktēriju kolonijas veidojošo vienību skaits (kvv) skaits pie dažādām spuru nekrozes klīniskajām izpausmēm

Fig. 5. CfU of bacteria in case of different healthy and diseased fin

Novērtējot mono- un jauktās infekcijas gadījumus, visos mūsu atrastajos literatūras avotos dominē monoinfekcija (Kirubakaran, et al., 1995; Turnbull, 1996). Neatradām nevienu literatūras avotu, kurā būtu aprakstīta jauktā infekcija spuru nekrozes gadījumā. Mūsu pētījumā vairumā gadījumu izolējām vienu patogēno baktēriju sugu, tomēr bija gadījumi, kad uz slimajām spurām bija divas patogēno baktēriju sugas (6. att.). Vairāk par divām baktēriju sugām vienai zivij neatradām

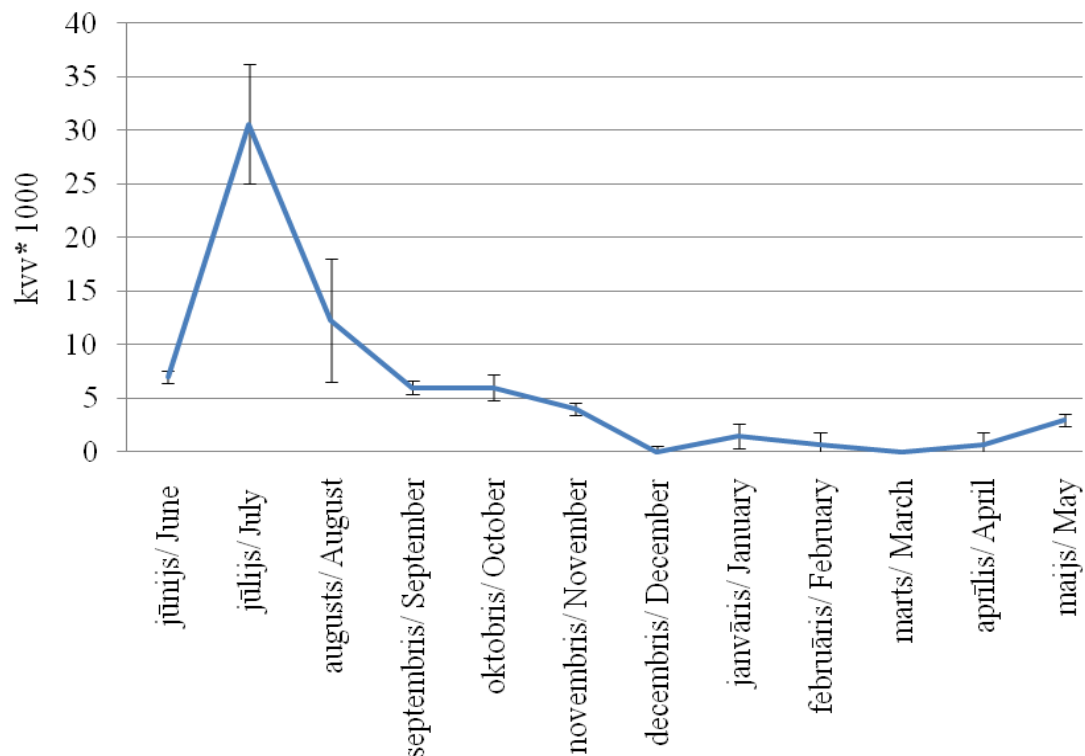
nevienā no izmeklētajiem gadījumiem. No veselām spurām visos gadījumos izolējām tikai vienu patogēno baktēriju sugu.



6. att. Baktēriju kombinācija jauktās infekcijas gadījumā
Fig. 6. Combination of bacteria in case of mixed infection

Jauktu infekciju konstatējām 22 gadījumos. Dažādās kombinācijās atradām aeromonas un flavobaktērijas (6. att.). *Pseudomonas fluorescens* visos diagnosticētajos gadījumos bija vienīgā patogēnā baktērija.

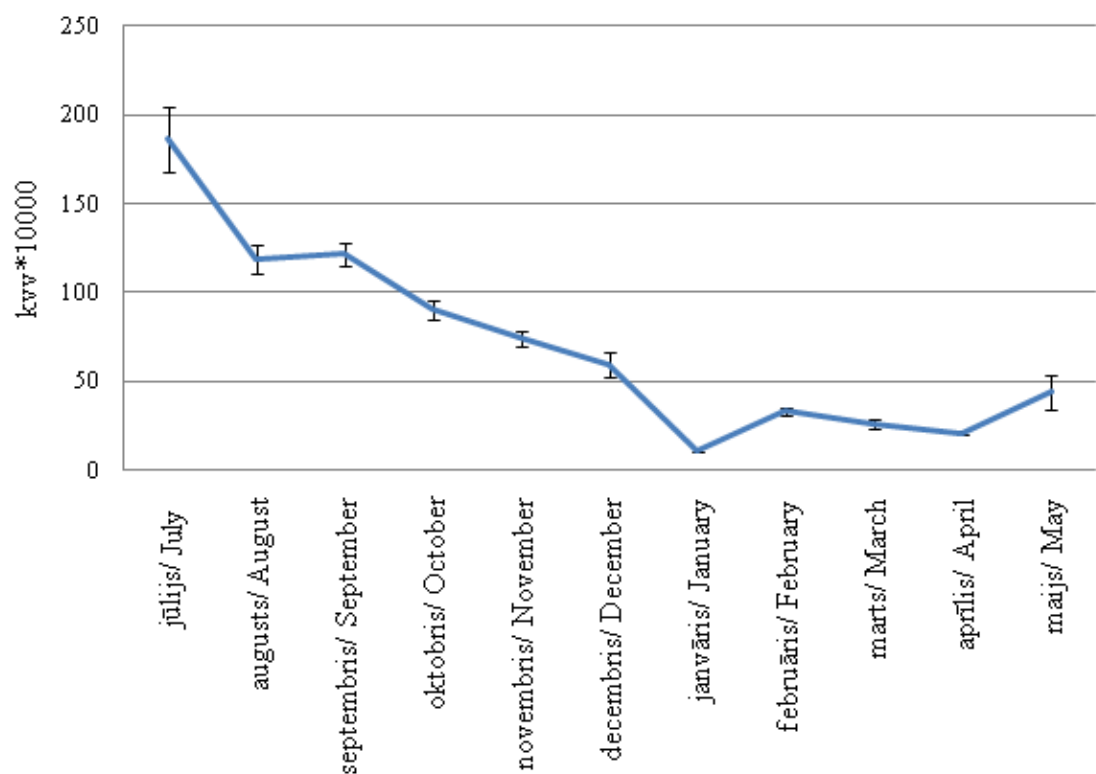
Attēlā (6. att.) redzam, ka visbiežāk spuru audos kopā atrastas *A. hydrophila* un *Flavobacterium* spp. – 9 gadījumos. Kombināciju – *A. hydrophila* un *A. salmonicida* – diagnosticējām 7 gadījumos, bet *Flavobacterium* spp. un *A. salmonicida* – 6 gadījumos. *A. hydrophila* ir visbiežāk ūdens sedimentā atrastā baktērija, bet *Flavobacterium* spp. Latvijas apstākļos lašiem biežāk sastopamā bakteriālās septicēmijas izraisītāja. Tādēļ loģiska ir šo baktēriju kombinācija arī uz spurām.



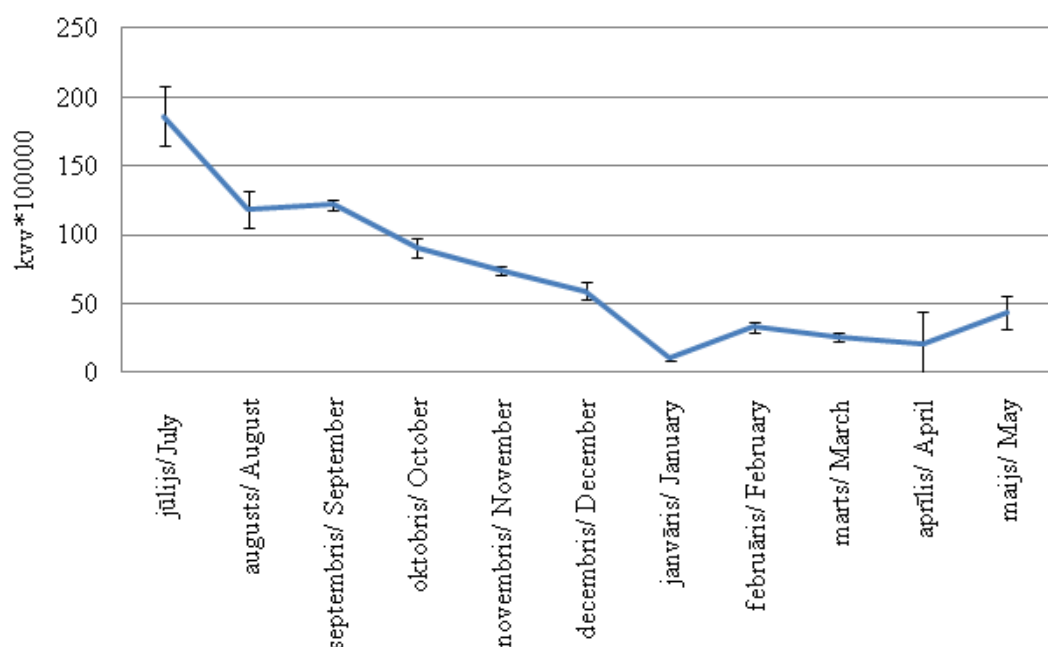
**7. att. Dažādos mēnešos izolēto baktēriju daudzums
kvv x 10³ no kliniski veselām spurām**
**Fig. 7. Amount of bacteria (cfu x 10³) isolated from healthy fin in
different month**

Novērtējot slimības sezonālītāti, redzam, ka vislielākais izolēto baktēriju daudzums (kvv) no veselām spurām ir atrasts jūlijā (7. att.). Jau augustā baktēriju daudzums pazeminās, ziemā nokrītoties līdz 0, bet līdz ar ūdens temperatūras paaugstināšanos pavasarī atkal nedaudz pieaug. Trīs gadu pētījumi liecina, ka šāda tendence saglabājas katru gadu.

Akūtas progresējošas nekrozes gadījumos izolēto baktēriju daudzums (kvv) ir salīdzinoši lielāks nekā baktēriju daudzums uz veselām spurām. Vairākus gadus pēc kārtas lielākais baktēriju skaits (kvv) izolēts jūlijā, rudenī baktēriju daudzums samazinās un, līdzīgi kā veselām spurām, viszemāko līmeni sasniedz janvārī (8. att.).



8. att. Dažādos mēnešos izolēto baktēriju daudzums kvv x 10⁴ no spurām akūtas nekrozes gadījumā
 Fig.8. Amount of bacteria (cfu x 10⁴) isolated from fin with acute necrosis in different month



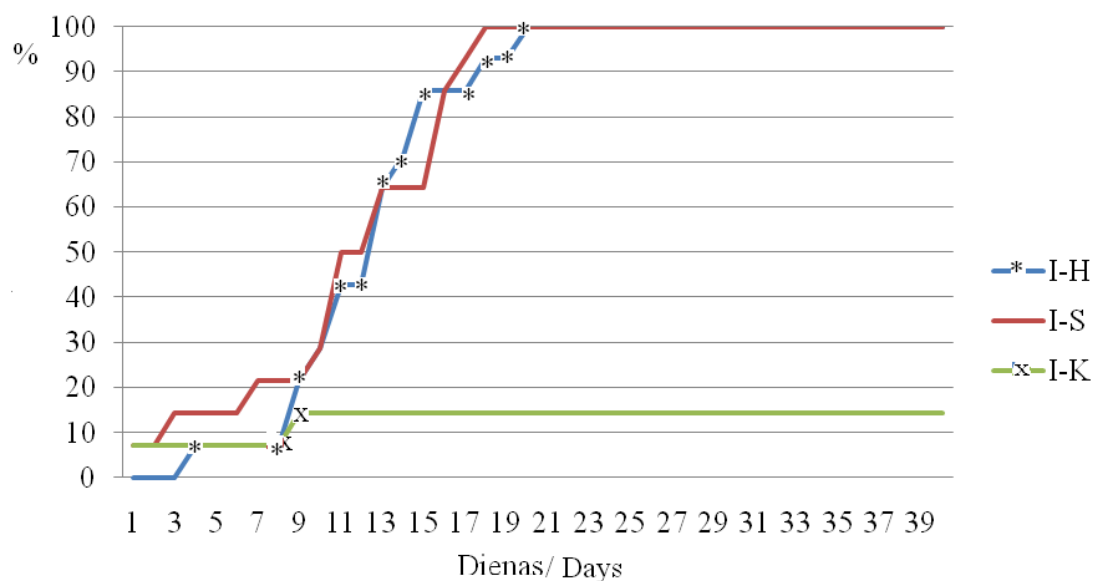
9. att. Dažādos mēnešos izolēto baktēriju daudzums kvv x 10⁵ no spurām akūtas nekrozes gadījumā, kad pie spuru staru pamatnes ir izveidojusies čūla
 Fig. 9. Amount of bacteria (cfu x 10⁵) isolated from fin with ulcer in different month

Gadījumā, kad spuras vietā vai pie spuru staru pamatnes ir izveidojusies čūla (9. att.), zemākais izolēto baktēriju daudzums (kvv) ir martā, īsi pirms smoltifikācijas vai smoltifikācijas sākumā. Lašiem, kuri smolta stadiju gada vecumā nerasniedz un kuriem ir reģistrēta akūta spuru nekroze, līdz ar ūdens temperatūras paaugstināšanos palielinās arī no spuru audiem izolēto baktēriju daudzums (kvv).

Lašu mazuļu eksperimentālās lašu inficēšanas rezultāti

Pētījumos par zivju eksperimentālo inficēšanu ar patogēnu tiek izmantotas intraperitoneālās injekcijas (Ellis et al., 1998; Magnodottir et al., 2002), intramuskulārās injekcijas (Ellis et al., 1998; Magnodottir et al., 2002), zivju vannošana baktēriju suspensijā (Rose et al., 1989; Ellis et al., 1998), baktēriju suspensijas ievadīšana *per os* (Rose et al., 1989). Mēs savā pētījumā izvēlējāmies baktēriju suspensijas inokulāciju vēdera dobumā un lašu vannošana baktēriju suspensijā.

Eksperimentālajai lašu inficēšanai izvēlējāmies biežāk izolētās baktērijas *A. hydrophila* un *A. salmonicida*. Pēc zivju inficēšanas katru dienu novērojām zivis, mirušajām zivīm veicām bakterioloģisko analīzi un noteicām kumulatīvo (summāro) mirstību.



10. att. Lašu kumulatīvā mirstība pēc baktēriju suspensijas injekcijas vēdera dobumā

Fig.10.Cumulative mortality of salmon, infected with bacteria in the abdominal cavity

I-H – *A. hydrophila* injekcijas/ injection of *A. hydrophila*

I-S – *A. salmonicida* injekcija/ injection of *A. salmonicida*

I-K – kontroles grupa/ group of control

Pirmās pētījuma grupas (I-H, I-S, I-K) lašiem veicām inficēšanu, injicējot vēdera dobumā baktēriju suspensiju. Otrā dienā pēc zivju inficēšanas ap injekcijas vietu parādījās iekaisuma pazīmes. Inficējot vēdera dobumā ar *A. salmonicida*, pirmā zivs nomira jau nākamajā dienā pēc injekcijas, bet *A. hydrophila* gadījumā – 4. dienā. Straujāka zivju mirstība bija, inficējot *A. salmonicida*, nedaudz lēnāk slimības

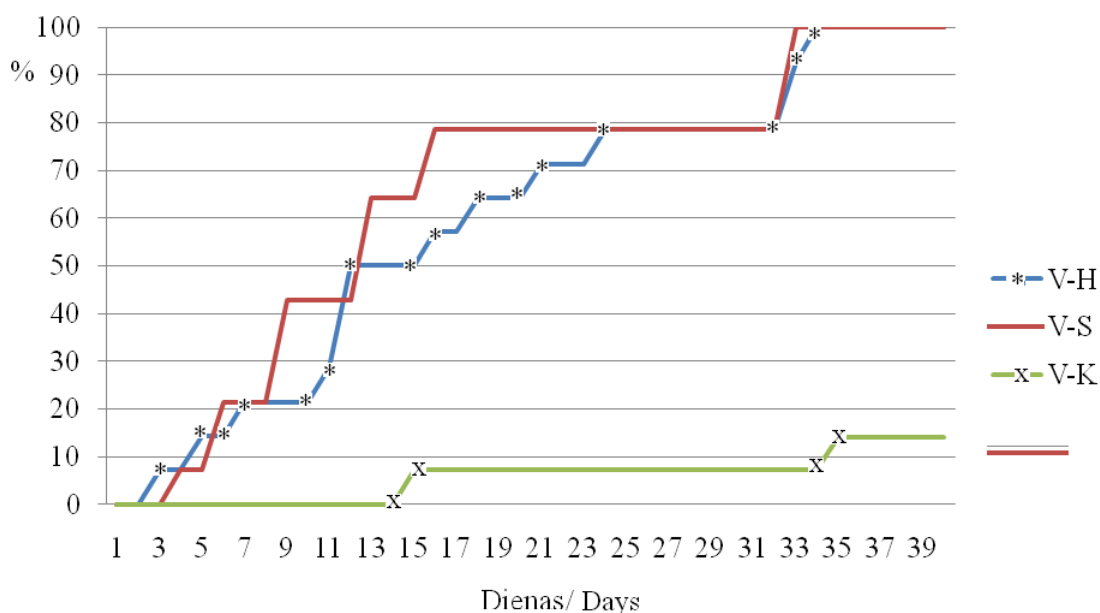
attīstības process noritēja, inficējot ar *A. hydrophila* un kumulatīvā mirstība sasniedza 100 % attiecīgi 18. un 20. dienā pēc inficēšanas (10. att.).

Līdzīga situācija izveidojās arī Magnadottir (2002) pētījumā. Ar *A. salmonicida* eksperimentāli inficētām mencām (*Gadus morhua*) pēc intraperitoneālās inficēšanas ar *A. salmonicida* 20 zivis no 49 mira pirmajās 15 dienās.

Lašiem, kuri tika inficēti vēdera dobumā, spuru nekroze neattīstījās. Veicot ihtiopatoloģisko izmeklēšanu, noskaidrojām, ka visām mirušajām zivīm vēdera dobumā bija sarkans šķidrums, serozajās plēvēs skaidri redzams asinsvadu zīmējums. Pēc 10. dienas mirušajiem lašiem palielināta liesa, ar noapaļotām malām, muskulatūra sarkanīga. No inficētajām zivīm izolējām attiecīgi *A. hydrophila* un *A. salmonicida*.

Arī mencām (Magnadottir et al., 2002) pēc inficēšanas veidojās septicēmijas pazīmes: āda kļuva tumšāka, ap intramuskulārās injekcijas vietu parādījās ādas kopsakara traucējumi, bija plašas hemorāģijas zemādā un vēdera dobumā.

Kontroles grupā līdz piektajai dienai bija mirusi viena zivs, kurai nekādas redzamas patoloģiskās izmaiņas nesaskatījām un patogēnās baktērijas neizolējām. Devītajā dienā nomira vēl viena zivs, arī tā bija bez redzamām patoloģiskām izmaiņām. Pārējās kontroles grupas zivis izdzīvoja līdz eksperimenta beigām.



11. att. Lašu kumulatīvā mirstība pēc zivju vannošanas baktēriju suspensijā
Fig.11.Cumulative mortality of salmon, infected with bath in bacteria suspension

V-H – vannošana *A. hydrophila* baktēriju suspensijā/ bath in *A. hydrophila* suspension
V-S – vannošana *A. salmonicida* baktēriju suspensijā/ bath in *A. salmonicida* suspension
I-K – kontroles grupa/ group of control

Otrās pētījuma grupas (V-H, V-S, V-K) lašiem veicām inficēšanu vannojot baktēriju suspensijā. Šajā gadījumā infekcijas ceļš ir gremošanas trakts un žaunas. Mirstība zivju grupā, kuras vannotas *A. salmonicida* suspensijā, sākās trešajā dienā un strauji pieauga no 9. līdz 16. dienai (11. att.). Šajā periodā nomira 50 % zivju, kumulatīvā mirstība 100 % atzīmi sasniedza 34. eksperimenta dienā. Mirušajām zivīm

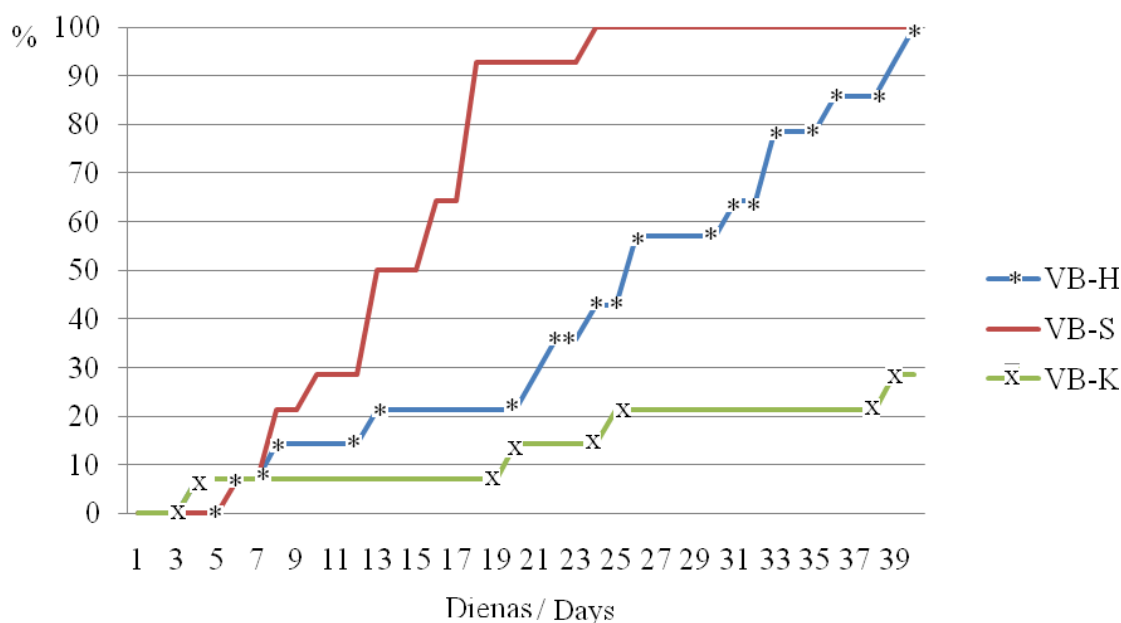
novēroja asinsiplūdumus muskulatūrā un uz serozajām plēvēm, dažām zivīm bija redzami asinsizplūdumi žaunās. Spuru nekrozes pazīmes pētījuma grupā nenovērojām.

Inficējot lašus ar *A. salmonicida* Rose et al. (1989), izmantoja zivju vannu ar dažādas koncentrācijas baktēriju suspensijā. Pie koncentrācijas 3×10^4 un augstākas zivīm attīstījās aeromonozes raksturīgie furunkuli zemādā un muskuļos. Mūsu pētījumā šādas klīniskās pazīmes nenovērojām.

Lašu mazuļu grupā, kuri inficēti, vannojot *A. hydrophila* suspensijā, pirmā zivs nomira 4. dienā pēc inficēšanas. Lielākais kumulatīvās mirstības kāpums bija no 11. līdz 24. dienai. 100 % kumulatīvā mirstība tika sasniegta 33. eksperimenta dienā. Spuru nekrozes pazīmes šajā eksperimenta grupā nenovērojām.

No inficētajām zivīm attiecīgi izolējām baktērijas *A. hydrophila* un *A. salmonicida*.

Kontroles grupā nomira divi laši, viens 14. un viens 34. dienā. Patogēnās baktērijas no mirušajām zivīm neizolējām.



12. att. Lašu kumulatīvā mirstība pēc mākslīgas brūces radīšanas un zivju vannu baktēriju suspensijā

Fig.12. Cumulative mortality of salmon, infected with bath in bacteria suspension after incision in fin

VB-H – vannošana *A. hydrophila* baktēriju suspensijā pēc mākslīgas brūces radīšanas/ bath in *A. hydrophila* suspension after incision

VB-S – vannošana, *A. salmonicida* baktēriju suspensijā pēc mākslīgas brūces radīšanas/ bath in *A. salmonicida* suspension after incision

VB-K – kontroles grupa/ group of control

Trešās pētījuma grupas lašiem (VB-H, VB-S, VB-K) pirms ievietošanas baktēriju suspensijā veicām iegriezumu (radījām brūci) muguras spurā. Brūci pēc šīs ķirurģiskās manipulācijas neapstrādājām ar dezinficējošu šķīdumu, lai imitētu brūču rašanos baseinā. Klīniskās spuru nekrozes pazīmes sāka veidoties 6. dienā pēc

vannošanas baktēriju emulsijā. Sākumā traumētajā vietā sāka veidoties iekaisums – apsārtums, bet 2–3 dienas vēlāk (8.–9. dienā) jau labi saskatāms aplikums.

Kontroles grupā visā eksperimenta laikā nomira 4 lašu mazuļi: ceturtajā, deviņpadsmitajā, divdesmit ceturtajā un trīsdesmit astotajā dienā. Nekādas redzamas patoloģiskas izmaiņas nenovērojām un patogēnās baktērijas neizolējām (12. att.).

Trešās pētījumu grupas lašiem *post mortem* no spurām izolējām patogēnās baktērijas attiecīgi *A. hydrophila* un *A. salmonicida*. Visos gadījumos novēroja monoinfekciju.

Kopumā visātrāk 100 % kumulatīvo mirstību sasniedza I–S grupa – 18. dienā, bet I–H 20. dienā pēc inficēšanas, turpretī, zivis vannot baktēriju suspensijā, 100 % kumulatīvā mirstība V–S un V–H grupā iestājās attiecīgi tikai 33. un 34. dienā.

Salīdzinot lašu kumulatīvo mirstību eksperimenta grupās, kurās inficēšanai aplicējām *A. hydrophila*, novērojām, ka zivis, kurām patogēnu injicējām vēdera dobumā, nomira ātrāk nekā zivis, kuras vannot baktēriju suspensijā. Salīdzinot divus vannosanas veidus, noskaidrojām, ka vēlāk kumulatīvo mirstību sasniedza tā zivju grupa, kurai radījām brūci muguras spurā pirms vannosanas baktēriju *A. hydrophila* suspensijā.

Nedaudz atšķirīga situācija veidojās eksperimenta grupās, kurās inficēšanai izmantojām *A. salmonicida*. Tāpat kā iepriekšējā gadījumā visātrāk kumulatīvo mirstību 100 % sasniedza eksperimentālā grupa, kurai vēdera dobumā injicējām baktēriju suspensiju. Bet, salīdzinot abas grupas, kurās izmantojām zivju vannosanu baktēriju suspensijā, pirmā kumulatīvo mirstību 100 % sasniedza zivju grupa, kurai radījām brūci muguras spurā pirms vannosanas baktēriju *A. salmonicida* suspensijā.

Gan Magnodottir (2002), gan mūsu pētījumā no inficētajām zivīm izdevās izolēt patogēno baktēriju, kura bija izmantota inficēšanai, pat gadījumos, kad nebija redzamas slimības pazīmes.

Kopumā, inficējot zivis ar patogēnajām baktērijām, kuras visbiežāk ir izolētas no spuru audiem, konstatējām, ka saslimšanu ar spuru nekrozi noteiktos apstākļos var izsaukt gan *A. hydrophila*, gan *A. salmonicida*.

SECINĀJUMI

1. Lašu mazuļu spuru nekroze skar zivis vecumā no vienasaras lašiem (0+) līdz smolciem (1) un ir izplatīta visās Latvijas specializētajās audzētavās, kurās laši tiek audzēti baseinos, turpretī dīķos audzētajiem un dabiskā nārsta lašiem spuru nekrozi nenovēro.
2. Pirmā spuru stara garums muguras, krūšu un vēdera spurām upē dzīvojošajiem lašiem ir būtiski lielāks ($p < 0,001$, $p < 0,05$) nekā baseinos un dīķos audzētiem lašu smolciem. Būtiski mazāks ($p < 0,001$, $p < 0,05$) ir muguras spuras pirmā stara garums baseinos dzīvojošiem lašiem.
3. Lašu mazuļu spuru nekrozes izplatība baseinos skar 95 % zivju, pie tam būtiski ($p < 0,05$) vairāk tā ir reģistrēta muguras spurai (*pinna dorsalis*). Spuru patoloģijas

ir izteiktas dažādās pakāpēs, sākot no spuru plēves dalīšanās, beidzot ar spuru staru izkrišanu un pilnīgu spuras zudumu. Baseinos audzētajiem lašu mazuļiem (0+) vasaras otrā pusē spurās ir redzamas patoloģiskas izmaiņas.

4. Pieaugušajiem lašiem akūta spuru nekroze nav diagnosticēta, taču novērojām dažādas pakāpes spuras zudums un malformācijas.
5. Nekrozes indekss pieaugušajiem lašiem ir būtiski ($p < 0.05$) zemāks nekā smoltiem, pie tam spuru malformācijas pieaugušajiem lašiem novērojām tikai muguras spurā, bet smoltiem arī pārējās spurās. Tas liek domāt par paaugstinātu lašu mirstību pēc izlaišanas jūrā.
6. Pētījumā konstatēts, ka lašu mazuļu spuru nekroze ir radusies baktēriju darbības rezultātā. Akūtas spuru nekrozes gadījumā, vislielākais izolēto baktēriju koloniju veidojošo vienību skaits ir vasaras mēnešos. No spuru audiem galvenokārt ir izolētas *Aeromonas hydrophila* un *Aeromonas salmonicida*.
7. Eksperimentāli pierādīts, ka spuru nekroze ir brūču infekcija, jo to konstatēja inficējot zivis ar vannošanas metodi baktēriju suspensijā pēc mākslīgi radītās traumas. Spuru nekrozes cēlonis ir traumatisms, kuram sekundāri pievienojas mikroflora.
8. Kopumā, inficējot zivis ar patogēnajām baktērijām, kuras visbiežāk ir izolētas no spuru audiem, konstatējām, ka saslimšanu ar spuru nekrozi noteiktos apstākļos var izsaukt gan *A. hydrophila*, gan *A. salmonicida*.

IETEIKUMI PRAKSEI

1. Iesakām izvairīties no dažādu manipulāciju veikšanas ar zivīm (šķirošana, pārvietošana u.c.) no jūlija līdz oktobra sākumam: periodā, kad baktēriju attīstībai ir vislabvēlīgākā ūdens temperatūra.
2. Ievērot saudzīgu apiešanos ar zivīm, īpaši izvairoties traumēt to spuras baseina tīrīšanas, kā arī zivju skaitīšanas (inventarizācijas) laikā.
3. Zivju šķirošanas, pārvešanas un citu manipulāciju laikā, lietot tām paredzētos anestēzijas līdzekļus, kas atslābina zivs muskulatūru, rezultātā piekļaujot spuras ķermenim un pasargājot no traumām.
4. Regulāri mainīt ūdens plūsmas virzienu baseinos, lai izlīdzinātu slodzi uz abām krūšu spurām.

PĒTĪJUMU REZULTĀTU APROBĀCIJA

Promocijas darba pētījumu rezultāti prezentēti 10 starptautiskās zinātniskās konferencēs:

1. **Medne R.**, Liepiņš E. Mākslīgi radītā lašu spuru nekroze. Starptautiskā zinātniskā konference "Dzīvnieki. Veselība. Pārtikas higiēna", Jelgava, 2010. gada 29. oktobrī.
2. **Medne R.** Fin necrosis of Baltic salmon in hatcheries and in the Baltic sea, 5th International conference "Research and conservation of biological diversity in Baltic region", Daugavpils, 22-24 april, 2009
3. **Medne R.**, Liepiņš E. Fin necrosis in Baltic salmon parr. 4th International conference "Research and conservation of biological diversity in Baltic region", Daugavpils, 25-27 april, 2007
4. **Medne R.**, Liepiņš E., Mednis A., Lašu mazuļu spuru nekrozes izraisītāju mikroorganismu dažādība. Starptautiskā zinātniskā konference "Dzīvnieki. Veselība. Pārtikas higiēna", Jelgava, 2006. gada 10. novembrī.
5. Balode M., Zagars M., **Medne R.**, Purina I., Pfeifere M. 2005. The influence of toxic blooms on development of juvenile salmon. 5th Baltic Sea Science Congress. The Baltic Sea changing ecosystem. Sopot, Poland 20-24 June 2005: 128.
6. **Medne R.**, Liepiņš E. No skartajiem audiem izolēto mikroorganismi pie lašu mazuļu spuru nekrozes. Starptautiskā zinātniskā konference "Dzīvnieki. Veselība. Pārtikas higiēna", Jelgava, 2004. gada 15. oktobrī.
7. **Medne R.** Fin damage of adult salmon (*Salmo salar*) and salmon smolt in hatcheries, International Scientific conference "Research for rural development", Jelgava 21-24 May 2003.
8. **Medne R.**, Savicka I. Main fish diseases of salmon in Latvia fish hatcheries, VII international symposium fish Physiology, Toxicology and water quality, Tallin, Estonia, May 12th-14th, 2003
9. **Medne R.**, Liepiņš E. Mākslīgos apstākļos audzēto un dabīgo lašu smoltu spuru nekrozes klīniskās izpausmes, Starptautiskā zinātniskā konference "Dzīvnieki. Veselība. Pārtikas higiēna", Jelgava, 2002. gada 14. novembrī
10. **Medne R.** Lašu mazuļu spuru nekrozes klīniskie pētījumi Latvijas zivaudzētavās. Starptautiskā zinātniskā konference „Zinātne lauku attīstībai”, Jelgava 2001 gada 23.-25. maijs

ZINĀTNISKĀS PUBLIKĀCIJAS UN TĒZES

1. **Medne R.**, Liepins E. Widespread disease – fin necrosis – of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Latvia hatcheries (pp. 14) *iesniegts publicēšanai Proceedings of the Latvia University of Agriculture*
2. **Medne R.**, Liepins E, Zingis M. Fin damage – problems of farmed salmon (*Salmo salar*) in Latvia. “Current problems of intensive development of animal husbandry” *Collection of scientific papers of the National Academy of Sciences of Belarus V.14 P. Gorki . 2011. P (pp. 8) pieņemts publicēšanai*
3. **Medne R.**, Liepiņš E., (2010) Mākslīgi radītā lašu spuru nekroze, *Starptautiskās zinātniskās konferences „Dzīvnieki. Veselība. Pārtikas higiēna” Raksti*, Jelgava, 88-102. lpp.
4. **Medne R.** (2009) Fin necrosis of Baltic salmon in hatcheries and in the Baltic sea, *Book of abstracts 5th International conference “Research and conservation of biological diversity in Baltic region”*, Daugavpils University, 93.,
5. **Medne R.**, Liepiņš E. (2007) Fin necrosis in Baltic salmon parr. *Book of abstracts 4th International conference “Research and conservation of biological diversity in Baltic region”* Daugavpils University, p.75
6. **Medne R.**, Liepiņš E., Mednis A., (2006) Lašu mazuļu spuru nekrozes izraisītāju mikroorganismu dažādība. *Starptautiskās zinātniskās konferences „Dzīvnieki. Veselība. Pārtikas higiēna” Raksti*, Jelgava, 196-200 lpp.
7. **Medne R.**, Liepiņš E. (2004) No skartajiem audiem izolēto mikroorganismi pie lašu mazuļu spuru nekrozes. *Starptautiskās zinātniskās konferences „Dzīvnieki. Veselība. Pārtikas higiēna” Raksti*, Jelgava, 197-200. lpp.
8. **Medne R.** (2003) Fin damage of adult salmon (*Salmo salar*) and salmon smolt in hatcheries, „Research for rural development”, *International Scientific conference Proceedings*, Jelgava p. 168-170.
9. **Medne R.**, Savicka I. (2003) Main fish diseases of salmon in Latvia fish hatcheries, *VII international symposium fish Physiology, Toxicology and water quality, Presentation and poster abstracts* p. 39. Estonia, Tallin
10. **Medne R.**, Liepiņš E (2002) Mākslīgos apstākļos audzēto un dabīgo lašu smoltu spuru nekrozes klīniskās izpausmes. *Starptautiskās zinātniskās konferences „Dzīvnieki. Veselība. Pārtikas higiēna” Raksti*, Jelgava, 151-156 lpp.
11. **Medne R.** (2001) Lašu mazuļu spuru nekrozes klīniskie pētījumi Latvijas zivaudzētavās. *Starptautiskās zinātniskās konferences „Zinātne lauku attīstībai” referāti* 144.-146. lpp

INTRODUCTION

Baltic salmon (*Salmo salar* L.) is a predatory migrating fish which spawns in rivers' riffle in the end of October and November. Fries hatch in a spring and stay in rivers for next 1 – 3 years, when they have reached a smolt stage, they migrate to a sea, and after some years salmon return in rivers for spawning.

Till the end of 20-th century the biggest river of salmon spawning in Latvia was Daugava. In 30-ies Keguma hydroelectric power station was built and passing ways were made for migrating fish. In the year 1965 Plavīnu hydroelectric power station was built and in 1974 – Riga hydroelectric power station. In these stations passing ways weren't built, that's why spawning places in Daugava for migrating fish int. al. salmon were lost. To maintain salmon population in previous scales at the same time with building of hydroelectric power station cascades fish hatcheries were built – *Serene, Tome, Kegums, Dole*. By the aim of rearing fish aquaculture can be divided in two big groups: rearing of market fish and rearing to compensate harm done to environment.

There are basic statements made for restocking of fish resources in Latvia from year 2011 till 2016 which are realized both with state and private hatcheries. Each of them has its own specialization in basic statements for renewing and maintenance of the population of established fish species. Salmon, sea trouts, breams, pikes, vimbas, lampreys and other fish are reared in state hatcheries.

By the data of ICES (International Council for the Exploration of the Sea) salmon conditions in the Baltic sea is stable but it is still dependent from artificial restocking of salmon. Every year all of Baltic sea countries let out 5,5 millions salmon smolts in general, 0,8 millions (14.5%) of which are reared in hatcheries of Latvia. Salmon which country of origin is Latvia migrate through out the Baltic sea for feeding. Marked Latvia salmon are being caught in the Gulf of Bothnia, the Gulf of Finland and near the Bornholm. Salmon feed even 800 km away from native river (Mitans, 2004).

When rearing fish in artificial circumstances, parasites and pathogen microorganisms are being brought with water from rivers which in natural circumstances probably wouldn't cause an illness but if considering in account the large amount of fish in tanks, stress made artificially (cleaning of fish feeder, change of nutrition, sorting of fish etc.) and raising of virulence of microorganisms during passage through weaker fish, morbidity rate in hatcheries increases. That's why serious attention must be paid at restocking of healthy and viable salmon.

The rearing of smolts is a labour-consuming and expensive process which takes one and a half or even two and a half years. Rearing is encumbered with illness of salmon which results in delayed growth and development and is followed with one more year of rearing (because smolt stage hasn't been reached), rejection of fish in autumn, at the time when large resources have been contributed, expenses for medications and mortality according to illness. One of the most common problems for breeders of smolts is salmon parrs fin necrosis.

There are too little and contradictious data about expressions and reasons of fin necrosis in Baltic salmon. Several scientists have studied fin pathologies in fish of different species in natural watercourses – seas and oceans.

The aim of the research

To investigate the distribution of salmon fin necrosis in Latvia's fish hatcheries and to evaluate the etiological factor of fin necrosis and its influence on health of salmon parrs.

Tasks of the research

1. To make epidemiological investigations of salmon fin necrosis.
2. To evaluate the clinical state of salmon parrs, nature and amount of fin damage in Latvian specialized salmon hatcheries.
3. To investigate and determine the clinical signs of adult – breeding used salmon and to compare these parameters with salmon smolts.
4. To establish the interconnections between smolts' and breeders' fin states accordingly to objective criteria.
5. To identify and describe fin necrosis causing microorganisms.
6. To identify the pathogen agent and its influence on salmon health.

The novelty of the research

1. First time in Latvia investigations about clinical signs of salmon fin necrosis are made.
2. Connection between grampositive and gramnegative bacteria in salmon fin has been studied.
3. Pathogen bacteria species in cases of fish fin necrosis have been established in hatcheries.
4. The identification of etiological factors of salmon fin necrosis has been done.

MATERIALS AND METHODS

The place of the research

The practical part of the investigation was carried out from year 2001 till 2006 in Latvia University of Agriculture, Faculty of Veterinary Medicine, Institute of Food and Environmental Hygiene, Latvia Fisheries Research institute, Laboratory of aquaculture and specialized fish farms of Latvia Fish Resources agency.

Investigation was performed in several steps: we evaluated the epidemiological situation by examination of salmon smolts in different rearing circumstances and adult fish; we did the bacteriological analysis of fin tissue; salmon parrs were infected artificially to prove the pathogenicity of bacteria.

Epidemiological and clinical investigation was made in salmon parrs' farms of Latvia and in natural salmon-river Salaca. The situation of adult salmon fin was evaluated in salmon artificial spawning station in Vecdaugava.

The bacteriological contamination of fin tissue was established in Latvia Fisheries Research institute, Laboratory of bacteriology.

Salmon artificial infection with bacteria *Aeromona salmonicida* and *A. hydrophila* was carried out in LFRI Laboratory of Aquaculture room of aquarium.

Salmon used in investigation

In our research salmon of both genders and different ages were used. Evaluation of fin clinical situation was done for 530 salmon parrs from hatching till smoltification and for 218 adult salmon which were caught in coastal region of the Gulf of Riga and in estuary of Daugava when returning for spawning in a native river. Fin bacteriological examination was made for 176 salmon parrs. There were 126 salmon parrs used in experiment to prove *Aeromona salmonicida* and *A. hydrophila* impact on development of fin necrosis.

Fish of different ages were used in the research: salmon parrs, one year old salmon, one year old smolts and adult salmon which returned to spawn. Groups of fish age are divided accordingly to ICES (International Council for the Exploration of the Sea) recommendations: 1.) salmon parrs from hatching (March, April) till the end of February next year – one-summer parrs (0+); 2.) one year old salmon parrs which haven't reached the smolt stage yet – one year old salmon (1); 3.) one year old salmon parrs which organism has adapted for living in salt-water, visible signs: scales become silver and streamline shape changes – smolts; 4.) adult salmon.

The general scheme of doctoral thesis

Investigations were made in several stages. In the beginning of the research we performed the evaluation of fin clinical situation by measurement of fin, establishing a level of necrosis or loss of fin and evaluating a stage of necrosis

process. On this basis we evaluated the prevalence of fin necrosis (epidemiological situation) in Latvia.

For evaluation of epidemiological situation we analysed salmon smolts from hatcheries and natural environment and adult salmon which returned for spawning in Daugava. Salmon, reared in fully controlled circumstances – tanks, were evaluated during the whole period of rearing.

For bacteriological examination we chose fish with different levels and stages of fin lesions to ascertain and identify pathogen microorganisms in fin tissue.

Evaluation of bacteria pathogenicity was performed by artificial infection of salmon with bacterial pure culture isolated in advance. During the experiment three series of research were performed, in each series three experimental salmon groups.

Epidemiological investigation

The analysis of epidemiological situation was performed by comparing the fin necrosis index with stage of development of salmon parrs which were reared in artificial circumstances: tanks and ponds. Parameters were compared with salmon parrs living in natural environment – river Salaca. The prevalence of illness was established of fish reared in fully controlled circumstances in four fish farms.

Clinical investigation of salmon parr fin

Fin status was clinically investigated of salmon parrs and breeders by measuring a length of fin, fish's weight and length.

The state of a fin was clinically examined and divided in two gradation classes: the first – fin necrosis level, the second – stage of development of fin necrosis process.

Fin necrosis level was established by Moutou et al. (1998) described methodology dependent of how big is the part of a fin being damaged but independent of physiological state of the fin. Designations were chosen according to author's suggestions D (damage). D₀ – fins with no damage, D₁ – fin loss to 30%, D₂ – fin loss from 30 to 70%, D₃ – fin loss more than 70%.

Stages of development of fin necrosis process were divided in 4 groups dependent from development process but independent from how much of the fin is lost: VS – healthy fin, unaffected fin rays and membrane, AP – acute, progressive fin necrosis, on the dorsal side of fin malacia of tissue is seen as white or greyish mass, sometimes haemorrhages can be seen. Dz – healing fin, connective tissue start to spread in fin rays but still some erosions are seen, SD – fin membrane and rays have healed.

Bacteriological investigation of salmon fins

For bacteriological analysis fin damage were divided in three groups: the first – healed wound and healthy fin, the second – acute, progressive necrosis, the third – an ulcer has developed in the place of a fin. Healed wound – in the place of damage connective tissue have developed but healthy fin – fin rays and membrane without visible signs of illness. In the case of acute progressive necrosis fin rays are damaged, soft tissue have dissolved, on the side of fin greyish white fur can be seen, in severe cases bleeding may appear. In the third group fish are included which have an ulcer in the place of a fin – skin disorders with signs of inflammation near the base of dorsal fin, fin rays might be lost.

Fish chosen for bacteriological investigation were placed on ice in special thermobag and as soon as possible delivered to laboratory (transportation time took from 30 min to 2 hours). On the sterile glass slide scrapes of fin surface were made. These were used to culture bacteria on specific medium and to make native smears. Smear was dried, fixed in flame and stained by Gram's method. Then it was dried and microscoped using immersion oil (in 100 x magnification).

For cultivation of bacteria Difco Nutrient agar, TSA agar, Lab-Lemco medium (Oxoid), Rimler Shot agar and Cytophaga agar were used. Sowing was incubated for 48 hours in 18 – 20°C (Quinn et al. 1998; Anonymus, 2010c). The total count of bacteria in 1 mg of tissue was established on nutrient agar and Cytophaga agar in Petri plates. After 48 hours of incubation colonies were counted by dividing them in groups by macroscopic characterization: colony size, color, surface structure. Colonies were chosen for isolation of pure culture. Then an identification of bacterial pure culture was performed.

For identification of bacteria group of signs was used – morphological signs (shape of bacteria, staining by Gram, Cytochromoxidase-Test) and biochemical signs – culturing bacterial pure cultures on different medium to determine a growth in aerobic and anaerobic circumstances. Biochemical reactions were established by incubating bacterial pure culture for 24 hours in 30°C. The pure culture was identified by morphological and biochemical signs, using API 20 E test and appropriate computer program (Holt, 1994; Kinne, 1984; Decostere, et al., 1997; Quinn et al., 1998; Anonymus, 2010 c).

Artificial infection

The experimental infection of fish with pathogen agent (*Aeromona hydrophila* and *A. salmonicida*) was performed in Latvia Fish Resources Agency (LFRA) in aquarium room of Laboratory of aquaculture in summer of 2001 and 2002.

Baltic salmon parrs farmed in specialized salmon hatchery incubator were used for bioassay. During the incubation of roe clear spring water enriched with oxygen was used. After overcoming to exogenous feeding, salmon parrs were fed with granular feed SGP – 493 made by Aller Aqua Company. At the start feeding 00 size flakes were used, later 0 size flakes. Fish chosen for bioassay were clinically healthy. The tank provided for transporting fish were filled with spring water in which fish were incubated and reared till the beginning of the experiment.

Glass aquariums with fish distribution area 0.5 m^2 for each were used in the experiment. Aquariums were equipped with adjusters of temperature and aerators. A water level in aquariums was 30 cm, there were 14 fish to 1 m^2 . The average length of a fish placed in aquariums was $6 \pm 0.3 \text{ cm}$, fish were fed every half an hour from 8 o'clock till 21 o'clock. The feed ration was calculated according to producers suggested Standard Tables. The granular feed SGP-493 made by Aller Aqua was used. The water temperature was $18 \pm 1.3^\circ\text{C}$. The oxygen level was 5 g/L and it was controlled twice a day with oximeter DO-300.

After transporting from hatcheries fish were acclimatized to new circumstances for 10 days. Three series of research were performed using different types of infection. Nine fish groups were made, in each group 14 salmon with average length $6.0 \pm 0.3 \text{ cm}$. Till the beginning of the experiment fish were incubated and reared in a specialized salmon hatchery by using of spring water. All fish had a behaviours typical to the species and there were no visible signs of illness. Before manipulations of infection salmon were anesthetized with 2-metilquinoline (quinaldine) by using of dip method. The dose of anesthetic device was 10 mg/L of water.

Suspension of bacteria was injected in abdominal cavity of a fish of the first research. 0.5 mL of bacterial suspension with concentration $1.5 \times 10^4 \text{ cfu}$ were infused with syringe in an abdominal cavity of each fish from experimental group without traumatization of internal organs. The names of experimental groups were made according to way of infection and bacterial species. Fish of the group I-H (*I* – injection; *H* – *hydrophila*) were injected with suspension of bacteria *A. hydrophila*, fish of the group I-S (*I* – injection; *S* – *salmonicida*) were injected with suspension of bacteria *A. salmonicida* but salmon of group I-K (*I* – injection; *K*-control) were injected with sterile saline.

Second experimental group: V-H (*V* – dip; *H* – *hydrophila*) – 14 salmon which were dipped in bacteria *A. hydrophila* suspension $1.5 \times 10^4 \text{ cfu /mL}^{-1}$ for 24 hours and V-S (*V* – dip; *S* – *salmonicida*) – 14 salmon which were dipped in bacteria *A. salmonicida* suspension $1.5 \times 10^4 \text{ cfu /mL}^{-1}$ for 24 hours V-K (*V* – dip; *K*– control) were held in clear water for making similar circumstances for experimental groups.

For the third experimental group wound were made in a fin and a part of the fin were extripated before dipping in the bacterial suspension. The wound wasn't treated with antiseptic devices for imitating a naturally caused wound in fish living in a tank. After the operation fish were dipped in the bacterial suspension: VB-H (*V* – dip; *B* – wound; *H* – *hydrophila*) – 14 salmon which were dipped in bacteria *A. hydrophila* suspension $1.5 \times 10^4 \text{ cfu /mL}^{-1}$ for 24 hours and VB-S (*V* – dip; *B* – wound; *S* – *salmonicida*) – 14 salmon which were dipped in bacteria *A. salmonicida* suspension $1.5 \times 10^4 \text{ cfu /mL}^{-1}$ for 24 hours. Salmon included in a control group VB-K (*V* – dip; *B* – wound; *K* – control) were cut in a dorsal fin, after that fish were held in clear water for creating similar circumstances to experimental groups.

The clinical statement of all fish was evaluated daily, dead fish were picked out and a bacterial and ichtiopathological examination was performed

Statistical analyses of dates

Data acquired in the research were processed with generally approved methods of descriptive and conclusive statistics which are described in mathematical, biological, medical and general literature (Arhipova, Balina 1999 a, b). Computer programmes *SPSS* (the product of company SPSS Inc. USA) and *Ms Excel* were used in the work.

The index of fin necrosis was calculated by the formula (Moutou et.al, 1998):

$$I_N = N^{-1} \sum_{n=0}^3 n_i D_i, \quad (1)$$

I_N – necrosis index of fish group;
 n – fish count in every level of fin necrosis;
 D – stage of fin necrosis;
 N – total count of fish in a group.

Fin necrosis index was calculated for all the group depending from gender, age, a source of water, circumstances of rearing, fatness. Fish condition was evaluated by using the general parameter used in fisheries praxis – condition factor.

Fish condition factor was calculated by the formula:

$$K = \frac{M \cdot 100}{g^3}, \quad (2)$$

K – fish condition factor;
 M – mass of a fish (g);
 g – length of a fish (cm).

For verifying a hypothesis according to set tasks and a type of data parametrical and nonparametrical statistical methods were used.

In verification of hypothesis differences of characteristics were evaluated with confidence of 95 %, 99 % and 99,5 % that comply with materiality level accordingly $p = 0,05$; $0,01$ and $0,005$.

The average index and a standard deviation were calculated for acquired data. For comparing of one sampled population Student's T-test was used. To compare differences of fin necrosis levels (fin loss) of smolts and breeders T-test was used to compare two independent sampled populations (Arhipova, Balina, 1999 a, b).

Two-factors and multi-factors correlation analysis was used for analysing an interconnection of statistical data and for analysis of mutual relevance (Arhipova, Balina, 1999 a, b).

RESULTS AND DISCUSSION

Evaluation of fin necrosis epidemiological situation in Latvia

In Latvia salmon are reared indoors – in hangars equipped with tanks and in outer environment – in ponds. To evaluate an incidence of salmon fin necrosis in different watercourses one year old salmon smolts were used for comparison of data.

A statement of fin is different for every fish. Fin necrosis and fin pathologies weren't observed in smolts reared in ponds and natural smolts. Proximal ends of fin were sharp, fin membrane appendant to rays. In many salmon smolts reared in tanks different fin pathologies were common: completely healthy fins, more or less damaged fin, that's why we calculated the fin necrosis index. When achieving age of smolt for salmon reared in tanks the highest fin necrosis index is for dorsal fin (2.19), but the lowest for ventral fin, accordingly 0.04 and 0.06. Necrosis of caudal fin wasn't observed in the research group (Tab.1).

The loss of pair fin in smolts has developed asymmetricaly and is observed in one or both fins, in the result the NI for left and right ventral fin is different and the same with left and right pectoral fin. The NI of pair fins in the left side of fish body is greater than in the right side but there is no relevant difference between level of damage NI of right and left pectoral fin ($p>0.05$) and between ventral fin NI ($p>0.05$) (Tab.1.). Turnbull (1998) in his researches has proved that most often traumatized fins of salmon are dorsal fin and left pectoral fin. It was interesting to find out that the necrotic left pectoral fin of fish *Synodontis schall* (*Teleostei*) which lives in Nigeria is substantially shorter than the right one (Araoye 2000). We don't know Turnbull's and Araoye's opinion why such situation has developed. We consider that the difference between left and right pectoral fin NI in Latvia's fish hatcheries has developed because of specific circulation of water. Salmon are reared in tanks where the water flow is circular, salmon instinctively swim upstream. During the movement pectoral fins are opened wide to keep balance and the direction of movement, the water resistance is not the same on both fins.

Fin necrosis in salmon smolts reared in ponds was seen in two cases and only dorsal fin was affected, and pathology was in D₁ level – it means that the loss of fin is less than 30%. Other fins weren't affected and there were no signs of defects of development or pathologic process in fins. By our opinion the partial loss of a fin in ponds' fish has appeared in previous year, soon after hatching when salmon parrs were kept in tanks before they were released in ponds.

In parrs from natural spawn fin necrosis wasn't seen in any case. The fin necrosis in salmon of natural spawn isn't observed in Scotland too (Turnbull et al., 1993; Turnbull et al., 1996).

For Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in hatcheries the least affected fins are anal fin and caudal fin (Turnbull et al., 1998 a,b) and the same was seen in our research – ventral and anal fin.

MacLean et al. (2000) in his research about necrosis of dorsal fin established that it is seen from 60 till 90 % of fish, in researches of Turnbull et al. (1996) researches – 93.8 % of fish. The same in our research – the dorsal fin is affected in 95.0 % of salmon parrs. (Fig.1.)

Necrosis index of adult salmon from female gender was 1.24, salmon from male gender – 0.97 (Fig. 2.) but for smolts it was accordingly 2.08 and 2.16. For adult salmon necrosis index is not as high as for smolts, it means that smolts have fin necrosis more often and in more serious level than adult fish (Fig. 2.). That indicates the chance of surveillance of salmon parrs after releasing them in natural environment. Immunologically strongest and best developed individuals survive. As it isn't known whether artificially reared or salmon from natural spawn are caught in breeders fishing, it is not possible to calculate the amount of released salmon which have returned for spawning. We couldn't find data in literature about NI comparison between smolts and adult salmon.

By evaluating the development of fin necrosis in hatcheries' tanks we realized that all salmon parrs have healthy fins and there are no visible signs of necrosis in June (Fig.3.). In the first part of July fin necrosis appears in only some fish. Starting from middle of July the amount of affected fish and the loss of fins sharply develops. It can be seen from NI (Fig. 3.) that is calculated considering into account the clinical statement of all fins (dorsal, pectoral, ventral, anal and caudal fins). Starting from September till the spring next year NI doesn't change substantially and with little changes remains about 1.2. In Scotland for artificially reared salmon fin traumatism and necrosis is most marked in August (MacLean et al., 2000), but in our research – in July. We think that it is associated with potential differences in the rearing process and the water temperature, wherewith the difference in bacterial pollution in Latvia and Scotland.

The clinical evaluation of fin necrosis

Healthy, properly developed salmon fins have clearly seen fin rays (*radii pinnae*) which are encircled with fin membrane (*pellicula pinnae*). Fin membrane is appendant to ray carcass and it is a little bit lighter than the skin of the body. For all fins the distal side of a fin is darker than the basal side. For salmon parrs (0+) the fin membrane is translucent, fin rays can be seen very clearly. During the growth *pellicula pinnae* gets darker because of deposition of pigments and thicker, wherewith rays are not seen as well as before. For adult salmon fin membrane is thick, it reminds a structure of the skin, rays of fins can not be seen.

The size of a fin depends on the size of a fish because fins grow together with fish and for bigger fish the first ray of fin is bigger than for smaller fish in the same age. That's why we established the relation between the first ray and the length of a fish to evaluate how much the fin has decreased because of pathological process (Tab. 2.).

The length of a ray from healthy fin of natural spawn salmon is 11.9 %, reared in tanks – 12.8 % (Tab. 2.) but reared in ponds 12.9 % of the length of a fish. The percentage of the first ray length of dorsal fin and the fish length for salmon living in river is substantially lower than for salmon reared in tanks ($p < 0.001$) and in ponds ($p < 0.05$). The length of pectoral fins is substantially different for salmon of all groups. The lowest difference in groups is seen between the relation of length of ventral fin and the length of a body. For salmon parrs from natural spawn almost all fins are larger, it is associated with fish way of life. Salmon parrs live and feed in riffles of rivers. Wherewith fish living in rivers all the time are in a strong stream, that for they

spend more energy and are more slender, longer than salmon parrs living in ponds and tanks. The flow in ponds is slow and stream doesn't appear, salmon parrs don't have to spend energy to keep themselves upstream. For fish living in tanks the stream is made artificially, but fish have enough food and they don't have to spend energy for getting feed – fish are shorter, thicker.

By clinical evaluation of salmon parrs fins we realized, that for salmon in the start of their lifes the fin membrane is thin and easy to traumatise. There are pathological changes seen in salmon parrs (0+) reared in tanks in the second part of a summer. But not all damage of fins look the same. There are fins with traumatised peaks of rays, with white or grey fur, with scar tissue and with hemorrhages. That's why damage of fins was divided in several groups: healthy fin; acute, progressive fin necrosis, bleeding ulcer developed; healed fin.

Acute, progressive fin necrosis with fur on the proximal end of a fin. In this group we included fish with progressive necrotic process according to clinical signs but only fin was affected. In some fish necrotic process had just begun: the angle or side of a fin had greyish white or white fur and peaks of fin rays had disappeared, in some fish necrosis had affected the most part of a fin, the fur of necrotic tissue was seen very well.

Fish with necrosis developed as far that fin rays had fallen out, necrosis had affected the skin and muscles and a bleeding ulcer had developed, were included in second group. Fallen fin rays were seen only in a case of necrosis of dorsal fin.

Third group – salmon which had had a fin necrosis but in the time of examination it had healed. The distal side of fin is smooth, sometime scar tissue can be seen, fin rays are rounded. Fin malformation was seen in some fish. This pathology was seen in a dorsal fin more often.

Fourth group – fish with healthy, unaffected fins. Fin rays in the distal end are sharp, fin membrane is appendant to both of contiguous fin rays.

For the most part of salmon reared in tanks the general state of health without visible change, reaction to irritation (different stress or feed) normal. Only few of examined fish had signs of general septicemia; mucuous membrane of eyes was red, hemorrhages near the basis of a fin.

Necrosis begins from the distal part of a fin. At the beginning malacia of tissue appears in one or more places. All the side of fin becomes light with a mass of dead tissue as the symptom progresses. The process of necrosis continue in direction of proxiaml part of a fin until the lessions of skin appear after some time as hard fin rays fall out ulcers develop in the same place which can be 2 – 2.5 cm long and 0.5 cm deep ie. even to 10 % of fish length. In this stage fish can die. Ulcers start to heal for fish have stayed alive by forming tissue hyperplasia.

There was no progressive fin necrosis in adult salmon but there were fins which were developed misshapen after the necrosis. Most often it was loss of a fin or a part of it. In salmon breeders pathologies were observed only in dorsal fin. There were no pathologies of pectoral, ventral, anal or caudal fins in breeder salmon.

An age of fish conforms to a farming season. Salmon always hatch in a spring and reach a stage of smolt in a spring of next year, that's why fish age is tightly

connected with seasonality. In a summer fish life pass more active, metabolism increases, intensity of feed intake rises and a risk of getting ill increases too.

Acute progressive dorsal fin necrosis in one summer parrs is registered in 62.5 % of all cases (Tab. 3.) but in salmon parrs one year old – 10.26 % of all cases. There was no acute progressive necrosis in smolts. Shortly before smoltification fish die or fins heal. Supposedly there is no smoltification in ill fish. Healed dorsal fin has only 3.13 % of one summer parrs but 72.41 % of smolts. Age of one year for salmon is achieved in March, April, that is very close to a period of smoltification, in this group of age the most part of salmon has a healed dorsal (58.98 %) and pectoral (34.6 %) fins (Tab. 3.).

When calculating a necrosis index and analyzing the situation in hatcheries' tanks reared salmon (Tab.4.) it is observed that necrosis index (NI) of dorsal fin in all groups of age is higher than NI of pectoral, ventral, anal and caudal fin.

One year old salmon and smolts have the highest NI of dorsal fin, and it is substantially higher than for one summer parrs (Tab. 4.). A decrease of the NI of a dorsal fin is observed because the most seriously ill salmon die until or at a smoltification, wherewith fin necrosis index statistically is lower.

The necrosis index of pectoral fin is higher for smolts and is substantially diverse ($p < 0.05$) in comparison with one summer and one year old salmon (Tab. 4.). It is significant that for smolts affected fin tissue often have already healed.

NI of a ventral and anal fin is the lowest in all groups of age because these fins are the most protected from tramatization.

The caudal fin is the most important locomotor organ for ensuring a movement. For one summer parrs the NI of caudal fin is 0,9 and it is substantially higher ($p < 0.05$) than for one year old salmon. There is no caudal fin necrosis observed in smolts (Tab.4.)

In the salmon restocking it is very important that in natural environment healthy, viable smolts of both gender are released, that's why the difference of necrosis index in both gender were evaluated (Tab. 5.). It was established that all parameters for salmon of male gender are a little bit higher but the result did surprise when the relevance was calculated (Tab. 5.) The highest NI both for individuals of male and female gender is of dorsal fin but the difference between genders is not relevant ($p < 0.05$).

In the case of necrosis of ventral and anal fin there is no significant difference between genders with reliability $P = 95 \%$ (Tab.5.)

Different data are acquired in other authors' researches. For the cyprinid fish (*Carrasius auratus*) individuals of male gender have substantially less marked fin necrosis than ones of female gender (Sharples et al. 1994). But for flukes (Lang et al., 1998) individuals of female gender have less marked fin necrosis than ones of male gender. Sharples et al. (1994), Lang et al. (1998) and our data differs because fish of different species are researched that live in different biotypes.

Salmon have to be slender with clearly marked shape of streamline, that's why fin necrosis index was calculated according to fish cindition factor (relationship

between weight and length). For artificially reared salmon K (condition factor) differed from 0.52 to 1.79, individual necrosis index of all fins from 0 to 1.3 (Fig. 4.)

In Great Britain (Scotland) the fin damage level in salmon is tightly connected with size of a fish. For bigger fish fin damage is observed six times more likely than for smaller fish (MacLean et al., 2000). Results of link test of our research shows that fin necrosis index lowers for fish with higher condition index. But connectedness between mentioned parameters is very weak, almost non-existent: coefficient of determination R^2 is 0.0385 and correlation coefficient r is -0.21 .

Bacteriological analysis of salmon fins pathological material

Bacterial examination was performed regularly during all the period of salmon rearing according to a stage and a level of fin necrosis: I) acute progressive fin necrosis with fur in the proximal part of a fin that has reached levels of development D_1 and D_2 (acute necrosis D_1 , D_2); II) necrosis has affected skin and muscles, a bleeding ulcer has developed (ulcer developed D_3); III) healthy fin and healed fin, distal side is smooth, fin rays are sharp (healthy fin).

The count of bacteria alive was expressed as the count of colony-forming units to 1 mg of tissue mass (cfu/mg), it means that the amount of visible colonies which was counted on Petri plate was referred to all sample.

Bacteria were isolated both from healthy and diseased fins but the count of microorganisms isolated differs considerably. Bacterial pollution of fin tissue from healthy fins was considerably lower than from diseased with fin necrosis. The lowest amount of bacteria was isolated from healthy fins (7.5×10^3 cfu) (Fig.5) and it must be considered that in some cases bacteria microorganisms from healthy fins weren't isolated at all. If a fish is healthy, glands of a skin exude mucus which has bactericide qualities that's how microorganisms got on the skin are destroyed.

The count of isolated bacteria in cases when necrosis had affected fin membrane and fin rays was considerably lower (7.3×10^4 cfu) than for those fish which already had ulcers (1.4×10^5 cfu). The highest amount of bacteria was isolated from fish which had fin rays fallen and ulcer developed (Fig.5).

Our research shows that spectrum of microorganisms from fin tissue is quite wide and in all levels of damaged fins nonpathogen grampositive and pathogen gramnegative bacteria were isolated. Grampositive bacteria dominated on healthy fins, but in cases of acute progressive necrosis and ulcers – gramnegative. By the side of those parameters we established that from healthy fins isolated bacteria are pathogen in 8.1 % of all cases, but for diseased fins the number of such cases are considerably higher – 88,1 % with acute progressive necrosis and 93.9% with ulcer developed.

In samples from fins *Aeromonas* spp. dominantes from all gramnegative bacteria genus (more than 80 %), more rarely bacteria from *Favobacterium* spp. and *Pseudomonas* spp. are common. *Pseudomonas fluorescens* are isolated only from tissue affected but they are not found if a fin is healthy.

When considering bacteria as an etiological factor we found out that in some countries *Pseudomonas fluorescens*, *P. anquilliseptica* etc. (Khan et al., 1981; El Altara et al., 1996), *A. salmonicida* (Turnbull, 1996), *Vibrio* spp. (Khan et al., 1981) were isolated. Khan et al. (1981) isolated bacteria from genus *Pseudomonas*, *Aeromona* and *Vibrio* from fin necrosis affected tissue of cods living in natural environment, by author's opinion they cause fin necrosis and mortality of fish to 52 %. When taking the count of cases when pathogen bacteria were isolated in comparison, it was observed that the most common bacteria are from genus *Aeromona*, bacteria species *A. hydrophila* and *A. salmonicida* were isolated. In cases of acute progressive fin necrosis *A. hydrophila* dominantes both on fins were only fin rays and fin membrane are affected and on fins where ulcer already has developed. In cases when ulcer had developed more often *A. salmonicida* was isolated (45.2 % of cases) than in cases when ulcer hadn't developed yet. In our research both bacteria mentioned were isolated from fin tissue damaged. The high proportion of *A. hydrophila* cases shows that these microorganisms have high pathogenicity and can cause an illness.

Aeromona spp. is the most common bacteria in water grounds (Mateos et al., 1992; Gonzalez et al., 2001) that's why these bacteria have a great chance to get in fish hatchery.

Aeromonosis is dangerous disease which can cause illness of many fish species. Illness is caused by pathogen bacteria from genus *Aeromona* which are common both in sea water and fresh-water (Hazen et al., 1978; Paniagua et al., 1990; Mateos et al., 1992; Kawula et al., 1996; Gonzalez et al., 2001; Nielsen et al., 2001; Sechi et al., 2002). In water with high level of pollution bacteria survives for a long time but in clear water bacteria soon die, that means that by clearing water before introducing in hatchery the risk of fish illness can be reduced.

When evaluating mono- and mixed infections in all sources of literature found monoinfection dominates (Kirubaharan, et al., 1995; Turnbull, 1996). We didn't find any source of literature where mixed infection in case of fin necrosis would be described. In our research in most cases one pathogen bacteria species was isolated but there were cases when two bacteria species were come across on diseased fins (Fig. 6). More than two bacteria species weren't found in any of cases. From healthy fins only one pathogen bacteria species was isolated in all cases.

Mixed infection was registrated in 22 cases. *Aeromona* and *Flavobacterium* were found in different combinations (Fig.6.). *Pseudomonas fluorescens* in all cases of isolation was the only pathogen bacteria.

In the figure (Fig. 6.) we can see that in fin tissue most often together *A. hydrophila* and *Flavobacterium* are found – in 9 cases. Combination of *A. hydrophila* and *A. salmonicida* was found in 7 cases, but *Flavobacterium* spp. and *A. salmonicida* – in 6 cases. *A. hydrophila* is the most common bacteria in water sediment but *Flavobacterium* spp. is the most common bacteria which cause septicemia in salmon of Latvia. It is logically that these two bacteria are found on salmon fins.

When evaluating a seasonality of illness it can be seen that the highest count of isolated bacteria from healthy fins is found in July (Fig. 7.). In August the count of bacteria falls, in a winter it drops to 0 but by the rise of water temperature in a spring

it increases again. Three years examinations show that such a tendency is seen every year.

In cases of acute progressive fin necrosis the count of bacteria isolated (cfu) is higher than the count of bacteria in cases of healthy fins. Several years in turn the highest amount of bacteria is isolated in July, in autums the count of bacteria falls, the lowest levels is reached in January (Fig. 9.).

In cases when ulcer has developed in a place of fin or near the fin the lowest count of bacteria is found in March shortly before the beginning of smoltification. In salmon that don't reach a stage of smolt in age of one year and that have an acute fin necrosis the count of bacteria (cfu) isolated from fin tissue increases accordingly to rise of water temperature.

Results of artificial infection of salmon parrs

In researches about fish experimental infection with pathogen intraperitoneal injections (Ellis et al., 1998; Magnodottir et al., 2002), intramuscular injections (Ellis et al., 1998; Magnodottir et al., 2002), fish dipping in bacterial suspension (Rose et al., 1989; Ellis et al., 1998), injection of bacterial suspension per os (Rose et al., 1989) are used. In our research we chose to perform inoculation of bacterial suspension in abdominal cavity and dipping of salmon in bacterial suspension.

For experimental infection of salmon the most often isolated bacteria *A. hydrophila* and *A. salmonicida* were chosen. After infecting fish were watched every day, for dead fish bacterial analysis was performed and cumulative (total) mortality was established.

Salmon of the first groups of investigation (I-H, I-S, I-K) were infected by injection of bacterial suspension in abdominal cavity. In the next day after infection signs of inflammation were seen around the place of injection. When injecting *A. salmonicida* in abdominal cavity the first fish died in the next day after injection but when injecting *A. hydrophila* – in the 4-th day. Mortality of fish was faster when infected with *A. salmonicida*, the process of illness was a little bit slower when infected with *A. hydrophila* and cumulative mortality reached 100% accordingly in the 18-th and 20-th day after infection (Fig. 10.)

The similar situation was seen in the research of Magnodottir (2002). Twenty cods (*Gadus morhua*) of 49 experimentally infected with *A. salmonicida* after intraperitoneal infection died in the first 15 days.

For salmon which were infected in abdominal cavity fin necrosis didn't appear. When ichtiopathological investigation was performed it was ascertain that all dead fish had red liquid in abdominal cavity, in serous membranes a pattern of blood vessels was clearly seen. In salmon died after 10-th day a spleen was enlarged with rounded sides, muscles were redish. From infected fish *A. hydrophila* and *A. salmonicida* were isolated.

After infection of cods (Magnodottir et al., 2002) signs of septicemia were seen too: skin became darker, there were skin changes around the place of injection, extensive hemorrhages in subcutaneous tissue and in abdominal cavity.

One fish of control group had died till the 5-th day, pathological signs weren't mentioned and no pathogen bacteria were isolated. In the 9-th day one more fish died without visible pathological changes. Other fish of control group survived until the end of the experiment.

Salmon from the second group of investigation (V-H, V-S, V-K) were infected by dipping them in a bacterial suspension. In this case the path of infection is a digestive tract and gills. The mortality of fish dipped in suspension of *A. salmonicida* started at the third day and sharply increased from 9-th to 16-th day (Fig.11.). In this period 50 % of all fish died, cumulative mortality 100% remark reached in the 34-th day of the experiment. There were hemorrhages in muscles and on serious membranes seen in dead fish, some of fish had hemorrhages in gills. Signs of fin necrosis weren't seen in the group.

When infecting salmon with *A. salmonicida* Rose et al. (1989) used fish dipping in bacterial suspension of different concentration. At the concentration 3×10^4 and higher furuncles typical of Aeromonosis were seen in subcutaneous tissue and muscles. In our research such signs weren't observed.

In the group of salmon parrs infected by dipping in suspension of *A. hydrophila*, the first fish died in the 4-th day after infection. The highest increase in a cumulative mortality was observed from 11-th to 24-th day. 100% cumulative mortality was reached in the 33-rd experimental day. Signs of fin necrosis in this group weren't observed.

A. hydrophila and *A. salmonicida* were isolated from fish infected.

In the group of control two salmon died, one in the 14-th and one in the 34-th day. No pathogen bacteria were isolated from dead fish.

Salmon of the third group of research (VB-H, VB-S, VB-K) were cut in dorsal fin before dipping in bacterial suspension. The wound of this surgical manipulation wasn't treated with disinfectant for imitating an appearance of a wound in a tank. Clinical signs of fin necrosis started to appear in the 6-th day after dipping in bacterial suspension. At the beginning in the traumatized place an inflammation appeared as redness but 2 – 3 days later (in the 8-th and 9-th day) fur was observed.

In the group of control 4 salmon's parrs died during the experiment: in the 4-th, 19-th, 24-th and 38-th day. There were no visible pathologies and no pathogen bacteria were isolated (Fig.12.)

Pathogen bacteria *A. hydrophila* and *A. salmonicida* were isolated from fins of salmon of the third experimental group. In all cases monoinfection was observed.

Group I-S was the one that reached 100% cumulative mortality faster than others – in the 18-th day but I-H – 20-th day after infection but when dipping fish in bacterial suspension, 100% cumulative mortality was reached in the 33-rd (V-S) and 34-th (V-H) day.

In the experimental groups infected with *A. hydrophila* fish infected by injection of bacterial suspension in abdominal cavity died faster than those dipped in bacterial suspension. When comparing two ways of dipping, we established that the

group which were cut in dorsal fin before dipping in bacterial suspension of *A. hydrophila*, reached the cumulative mortality later.

A little bit different situation appeared in experimental groups which were infected with *A. salmonicida*. Just like before the cumulative mortality 100% was reached fastest by experimental group which were injected with bacterial suspension in abdominal cavity. But when comparing both groups which were dipped in bacterial suspension, the first that reached 100% cumulative mortality was the one which were cut in dorsal fin before dipping in *A. salmonicida* bacterial suspension.

Both in our and Magnodottir (2002) research the pathogen bacteria which were used for infection, were isolated from infected fish even when no signs of illness were seen.

In the summary, when infecting fish with pathogen bacteria which are isolated from fin tissue, we established that in certain circumstances the affection with fin necrosis can be caused both with *A. hydrophila* and *A. salmonicida*.

CONCLUSION

1. The fin necrosis of salmon parrs affect fish in age from one summer old salmon (0+) to smolts (1) and is common in all specialized hatcheries of Latvia where salmon are reared in tanks but in salmon reared in ponds and salmon of natural spawn fin necrosis isn't observed.
2. In the salmon living in river the first fin ray of dorsal, pectoral and ventral fins is substantially longer ($p < 0,001$, $p < 0,05$) than for salmon smolts reared in tanks and ponds. Substantially shorter ($p < 0,001$, $p < 0,05$) is the first fin ray of dorsal fin of salmon living in tanks.
3. The distribution of salmon parrs fin necrosis affects 95 % of all fish and more often ($p < 0.05$) it is registered in the dorsal fin (*pinna dorsalis*). Fin pathologies are common in different levels, starting from deviding of fin membrane, ending with loss of fin rays and absolute loss of fin. In fins of salmon parrs (0+) reared in tanks in the second part of summer visible pathological changes can be seen.
4. For adult salmon acute fin necrosis wasn't established but the loss of fin and malformation of different levels were seen.
5. The necrosis index of adult salmon is substantially ($p < 0.05$) lower than NI of smolts. For adult salmon fin malformation was seen only of dorsal fin but for smolts in other fins too. It makes us to consider the high mortality after releasing in sea.
6. It was observed that fin necrosis of salmon parrs has developed in the result of bacterial influence. In the case of acute necrosis the highest isolated cfu amount was registered in summer months. For the most part from fin tissue were isolated *Aeromona hydrophila* and *Aeromona salmonicida*.
7. It is experimentaly prooved that fin necrosis is a wound infection because it was observed when infecting fish by dipping method after artificially caused trauma.

The cause of fin necrosis is traumatism which is followed by secondary microflora.

8. When infecting fish with pathogen bacteria isolated from fin tissue most often it was observed that in certain circumstances fin necrosis can be caused by *A. hydrophila* and *A. salmonicidae*.

RECOMENDATION FOR PRACTICE

1. We suggest to avoid different manipulation with fish (sorting, transporting etc.) from July to the beginning of October: in the period when water temperature is the most beneficial to development of bacteria.
2. The careful dealing with fish must be considered to avoid fin traumatizing while cleaning the tank and the counting of fish (inventory).
3. During the sorting, transporting and other manipulations anaesthesia devices must be performed which relax muscles of a fish, in the result fins flatten to the body protecting themselves from trauma.
4. The direction of water flow in tanks must be changed regularly to level the load to both pectoral fins.

APPROBATION OF RESULTS OF THE RESEARCH

Results of the doctoral thesis have been presented in 10 international scientific conferences:

1. **Medne R.**, Liepiņš E. Artificially caused salmon fin necrosis. International scientific conference "Animals. Health. Food hygiene", Jelgava, the 29th of October 2010
2. **Medne R.** Fin necrosis of Baltic salmon in hatcheries and in the Baltic sea, 5th International conference "Research and conservation of biological diversity in Baltic region", Daugavpils, 22-24 april, 2009
3. **Medne R.**, Liepiņš E. Fin necrosis in Baltic salmon parr. 4th International conference "Research and conservation of biological diversity in Baltic region", Daugavpils, 25-27 april, 2007
4. **Medne R.**, Liepiņš E., Mednis A., The diversity of microorganisms causing salmon parrs fin necrosis. International scientific conference "Animals. Health. Food hygiene", Jelgava, the 10th of November 2006.
5. Balode M., Zagars M., **Medne R.**, Purina I., Pfeifere M. 2005. The influence of toxic blooms on development of juvenile salmon. 5th Baltic Sea Science Congress. The Baltic Sea changing ecosystem. Sopot, Poland 20-24 June 2005: 128.
6. **Medne R.**, Liepiņš E. Microorganisms isolated from tissue affected with salmon parrs fin necrosis. International scientific conference "Animals. Health. Food hygiene", Jelgava, the 15th of October 2004.
7. **Medne R.** Fin damage of adult salmon (*Salmo salar*) and salmon smolt in hatcheries, International Scientific conference "Research for rural development", Jelgava 21-24 May 2003.
8. **Medne R.**, Savicka I. Main fish diseases of salmon in Latvia fish hatcheries, VII international symposium fish Physiology, Toxicology and water quality, Tallin, Estonia, May 12th-14th, 2003
9. **Medne R.**, Liepiņš E. Clinical signs of salmon smolts fin necrosis in salmon smolts reared in artificial circumstances and natural environment. International scientific conference "Animals. Health. Food hygiene", Jelgava, the 14th of November 2002.
10. **Medne R.** Clinical investigation of salmon fin necrosis in Latvian fish farms Scientific conference „Research for rural development”, Jelgava 23.25. May 2001

SCIENTIFIC PUBLICATIONS AND THESIS

1. **Medne R.**, Liepins E. Widespread disease – fin necrosis – of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Latvia hatcheries (pp. 14) *submitted for publication Proceedings of the Latvia University of Agriculture.*
2. **Medne R.**, Liepins E, Zingis M. Fin damage – problems of farmed salmon (*Salmo salar*) in Latvia. “Current problems of intensive development of animal husbandry” *Collection of scientific papers of the National Academy of Sciences of Belarus V.14 P. Gorki . 2011. P (pp. 8) accepted for publication.*
3. **Medne R.**, Liepiņš E., (2010) Artificially caused salmon fin necrosis. International scientific conference “Animals. Health. Food hygiene” Articles, Jelgava, p. 88-102.
4. **Medne R.** (2009) Fin necrosis of Baltic salmon in hatcheries and in the Baltic sea, *Book of abstracts 5th International conference “Research and conservation of biological diversity in Baltic region”*, Daugavpils University, 93.
5. **Medne R.**, Liepiņš E. (2007) Fin necrosis in Baltic salmon parr. *Book of abstracts 4th International conference “Research and conservation of biological diversity in Baltic region”* Daugavpils University, p.75.
6. **Medne R.**, Liepiņš E., Mednis A., (2006) The diversity of microorganisms causing salmon parrs fin necrosis. International scientific conference “Animals. Health. Food hygiene” Articles, Jelgava, p. 196-200.
7. **Medne R.**, Liepiņš E. (2004) Microorganisms isolated from tissue affected with salmon parrs fin necrosis. International scientific conference “Animals. Health. Food hygiene” Articles, Jelgava, p. 197-200.
8. **Medne R.** (2003) Fin damage of adult salmon (*Salmo salar*) and salmon smolt in hatcheries, „Research for rural development”, *International Scientific conference Proceedings*, Jelgava p. 168-170.
9. **Medne R.**, Savicka I. (2003) Main fish diseases of salmon in Latvia fish hatcheries, *VII international symposium fish Physiology, Toxicology and water quality, Presentation and poster abstracts* p. 39. Estonia, Tallin.
10. **Medne R.**, Liepiņš E (2002) Clinical signs of salmon smolts fin necrosis in salmon smolts reared in artificial circumstances and natural environment. International scientific conference “Animals. Health. Food hygiene” Articles, Jelgava, p. 151-156.
11. **Medne R.** (2001) Clinical investigations of salmon parrs fin necrosis in fish hatcheries of Latvia. *International scientific conference „Science for development of countryside” reports* p. 144.-146.