

## ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ БЛАГОПОЛУЧИЯ МАРИКУЛЬТУРНЫХ УСТРИЧНЫХ ХОЗЯЙСТВ

<sup>1,2</sup>Бугаев Л.А., <sup>1,3,4</sup>Войкина А.В., <sup>3,5</sup>Морозова М.А., <sup>1</sup>Мальцев В.Н.

<sup>1</sup>Азово-Черноморский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («АзНИИРХ»), г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

<sup>2</sup>Кубанский государственный университет, г. Краснодар, Российская Федерация

<sup>3</sup>Донской государственный технический университет, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

<sup>4</sup>Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

<sup>5</sup>ФБУН «Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

**Аннотация.** В работе представлены результаты исследований паразитологического, инфекционного и биохимического статусов гигантской устрицы (*Crassostrea gigas*) из марикультурных хозяйств Черного моря. Исследования проводились в мае и августе 2020 г. Выявлена встречаемость у выращиваемых устриц в Черном море возбудителей клоноза, полидороза, гексамитоза. Среди возбудителей инфекционных заболеваний моллюсков были выделены вибрионы *Vibrio pomeroyi*, *V. gigantis*, *V. pacinii*, *V. harveyi*, *V. alginolyticus*, *V. fortis*, из которых *Vibrio pomeroyi*, *V. alginolyticus* признаны патогенными для *Crassostrea gigas*. Определены референсные диапазоны показателей ферментов антиоксидантного комплекса. Полученные данные позволяют планировать как профилактические, так и лечебные мероприятия на устричных хозяйствах.

**Ключевые слова.** Гигантская устрица, *Crassostrea gigas*, антиоксидантный статус

## APPROACHES TO DETERMINING THE WELL-BEING OF MARICULTURAL OYSTER FARMS

<sup>1,2</sup> Bugaev L.A., <sup>1,3,4</sup>Voikina A.V., <sup>3,5</sup> Morozova M.A., <sup>1</sup>Maltsev V.N.

<sup>1</sup>Azov-Black Sea Branch of VNIRO Russian Federal Research Institute Of Fisheries And Oceanography (AzNIIRKH), Rostov-on-Don, Russian Federation

<sup>2</sup>Kuban State University, Krasnodar, Russian Federation

<sup>3</sup>Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

<sup>4</sup>Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation

<sup>5</sup>FBUN "Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology" of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Annotation.** The paper presents the results of studies of the parasitological, infectious and biochemical status of the giant oyster (*Crassostrea gigas*) from the Black Sea mariculture farms. The studies were carried out in May and August 2020. The occurrence of pathogens of clonosis, polydorosis, hexamitosis in oysters grown in the Black Sea was revealed. Vibrios *Vibrio pomeroyi*, *V. gigantis*, *V. pacinii*, *V. harveyi*, *V. alginolyticus*, *V. fortis* were isolated among the causative agents of infectious diseases of molluscs, of which *Vibrio pomeroyi*, *V. alginolyticus* were recognized as pathogenic for *Crassostrea gigas*. The reference ranges of indicators of enzymes of the antioxidant complex were determined. The obtained data allow planning both preventive and therapeutic measures on oyster farms.

**Keywords.** Giant oyster, *Crassostrea gigas*, antioxidant status

В последние годы гигантская устрица (*Crassostrea gigas*) стала занимать важное место в марикультуре черноморского бассейна Российской Федерации. В настоящее время на черноморском побережье России организовано более трех десятков хозяйств, занимающихся полноцикловым выращиванием данного моллюска. Спат устриц закупается или в европейских странах средиземноморского региона, или на Дальнем Востоке [3]. Практический опыт культивирования гигантской устрицы показал ряд проблемных моментов, существенно сказывающихся на рентабельности хозяйств. Марикультура — это высоко рисковая деятельность. Риски, воздействующие на хозяйства марикультуры, могут быть объединены, в следующие группы: климатические, биологические, экологические, экономические, браконьерство.

Из представленного перечня факторов риска в аспекте благополучия аквакультурного

хозяйства следует учитывать первые три. Отметим, что под экологическими рисками мы понимаем также и возможную неблагоприятную паразитологическую и инфекционную обстановку. Искусственное выращивание двустворчатых моллюсков происходит в условиях очень высокой плотности, которая редко достигается в природе. Такие плотности могут приводить к неблагоприятным эффектам, в первую очередь, таким, как недостаток кислорода и пищи, а также к повышенной зараженности паразитами и быстрому распространению различных болезней.

Важной предпосылкой для устойчивого функционирования хозяйств марикультуры двустворчатых моллюсков является разработка подходов для оценки состояния моллюсков в условиях искусственного культивирования [6]. Возможным решением проблемы изучения и прогнозирования устойчивости хозяйств марикультуры служит эффективное определение маркеров состояния моллюсков на молекулярном, клеточном и организменном уровнях, а также в сопоставлении их с возможными последствиями на более высоких уровнях организации (популяции, сообщества, экосистемы) [4]. Для этого обычно используют характеристики, связанные с приспособленностью, которую можно определить, как меру способности индивида к выживанию и воспроизводству. Поскольку разные компоненты приспособленности могут по-разному реагировать на изменения внешних условий, для наиболее полной оценки приспособленности необходим комплексный подход с анализом нескольких ее компонентов [6].

Благополучие хозяйства аквакультуры, специализирующегося на культивировании двустворчатых моллюсков, – это комплексная характеристика, которая складывается из целого ряда показателей, описывающих факторы среды обитания, факторы физиолого-биохимического состояния объектов аквакультуры и экологические факторы, связанные с паразитарными инвазиями, заболеваниями инфекционного и вирусного генеза. В этой связи, целью настоящего исследования являлось изучение паразитологического, инфекционного и биохимического статусов гигантской устрицы из марикультурных хозяйств Черного моря.

Были обследованы моллюски из четырех марикультурных хозяйств Черноморского побережья Северного Кавказа и юго-западной части п-ова Крым (рис. 1) в мае и июне 2020 г. На каждом хозяйстве отбиралось по 20-30 особей. Паразитологические исследования выполнялись согласно рекомендациям по планированию и проведению противоэпизоотических мероприятий в рыбоводных хозяйствах и правилам взятия патологического материала [1, 7]. Отбор, подготовка проб и микробиологический анализ выполняли в соответствии с методическими указаниями и руководствами [8–10]. Физиолого-биохимический статус определяли по ряду показателей: Малоновый диальдегид (МДА), мкмоль/мг белка, супероксиддисмутаза (СОД), у.е./мин/мг белка, каталаза (Cat или Кат), мкмоль/мин/мг белка, ацетилэстераза (АцЭ), нмоль/мин/мг белка, восстановленный глутатион (GSH), нмоль/мин/мг белка, глутатион-S-трансфераза (GST), нмоль/мин/мг белка, глутатионредуктаза (ГР), нмоль/мин/мг белка, глутатионпероксидаза (ГП), нмоль/мин/мг белка, GSH/МДА [2, 5].



Рисунок 1 – Схема расположения обследованных марикультурных мидийно-устричных хозяйств. 1-4 – условные номера аквакультурных хозяйств

**Результаты исследований.** В ходе майских и августовских исследований мидийно-устричных хозяйств Крыма и Кавказа получены данные о зараженности тихоокеанских устриц паразитами, способными вызывать у них паразитарные болезни. Была выявлена встречаемость у выращиваемых устриц в Черном море возбудителей клинозоа, полидороза, гексамитоза (таблица 1). Предполагается, что полидороз представлял наибольшую угрозу для разведения устриц, поражая значительную долю популяции моллюсков, приводя к ухудшению их товарного вида. Потенциально опасными обнаруженными болезнями являются гексамитоз и болезни, вызываемые инфузориями отряда

Scuticociliatida (возбудители скутикоцилиатоза моллюсков). В исследованных пробах не были обнаружены клинические признаки и возбудители нематодпсидоза, болезней, вызываемых инфузориями, личиночных трематодозов, микроспориоза, перкинсоза, микроцитоза, гаплоспориоза, что может свидетельствовать о благополучии исследованных хозяйств в отношении этих заболеваний.

Таблица 1 – Встречаемость паразитарных инвазий у гигантской устрицы

Названия контролируемых болезней	Номера аквакультурных хозяйств							
	1		2		3		4	
	Весна	Лето	Весна	Лето	Весна	Лето	Весна	Лето
Клиноз	+							
Микроспориоз								
Нематодпсидоз								
Гексамитоз	+		+		+		+	+
Болезни, вызываемые инфузориями		+		+		+		+
Личиночные трематодозы								
Полидороз	+	+	+	+	+	+	+	
Перкинсоз								
Микроцитоз								
Гаплоспориоз								

Результаты микробиологического исследования тихоокеанской устрицы, проведенного в **весенний** период, показали колонизацию тканей всех обследованных моллюсков галофильными вибрионами. Таксономический состав был представлен 6 видами: *Vibrio pomeroyi*, *V. gigante*, *V. pacinii*, *V. harveyi*, *V. alginolyticus*, *V. fortis*, из которых *Vibrio pomeroyi*, *V. alginolyticus* признаны патогенными для *Crassostrea gigas*. Вибриофлора моллюсков в основном была представлена условно-патогенными вибрионами, при этом в составе микрофлоры устриц из каждого мидийно-устричного хозяйства было выделено не менее 4-5 видов.

Независимо от расположения хозяйства на Черном море, преобладали галофильные вибрионы 2-х видов - *V. alginolyticus* и *V. Gigantis*. На их долю приходилось 60-82 % от выделенных изолятов. *Vibrio harveyi*, возбудитель светящегося вибриоза у креветок, также был постоянным компонентом вибриофлоры устриц (таблица 2). Обнаружение этих видов у клинически здоровых устриц позволяет считать их постоянной частью микробиоты моллюсков. Однако при изменении условий содержания моллюсков *V. alginolyticus* может вызывать вибриоз у личинок и спата. Согласно исследованиям, проведенным во Франции, предполагается участие *Vibrio harveyi* и *V. gigante* в сочетании с другими вибрионами в так называемой «летней смертности» устриц.

Наличие в организме устриц возбудителя вибриоза *Vibrio pomeroyi*, вызывающего заболевание у взрослых особей, выявлено в 3 хозяйствах (1, 2, 4, рис. 1) Черноморского побережья Кавказа и Крыма, а в хозяйстве, расположенном на озере Донузлав (3, рис. 1), этот вид вибрионов не встречался.

Таблица 2 – Встречаемость инфекционных заболеваний у гигантской устрицы

Названия контролируемых болезней	Номера аквакультурных хозяйств							
	1		2		3		4	
	Весна	Лето	Весна	Лето	Весна	Лето	Весна	Лето
<i>Vibrio (Listonella) anguillarum</i>								
<i>V. harveyi</i>	+	+	+	+	+	+	+	
<i>V. pomeroyi</i>	+		+		+			
<i>V. parahaemolyticus</i>		+		+		+		+
<i>V. gigante</i>	+		+		+		+	
<i>V. alginolyticus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>V. pacinii</i>					+		+	
<i>V. fortis</i>	+		+	+				+
<i>V. chagasii</i>						+		+

Микробиологический анализ устриц, проведенный в **летний** период показал, колонизацию организма моллюсков галофильными вибрионами. Таксономический состав бактерий р. *Vibrio* включал 5 видов: *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. fortis*, *V. chagasii*, *V. Parahaemolyticus* (таблица 2). Число видов вибрионов, выделенных из организма устриц на мидийно-устричных хозяйствах, варьировало от 3 до 5. Кроме того, установлена сезонность качественного состава вибриофлоры. Так, *V. giganteis*, *V. pacinii*, *Vibrio pomeroiy* в микрофлоре устриц встречались только весной, а летом были выявлены другие виды: *V. chagasii*, *V. parahaemolyticus*. Кроме того, если весной доминировали *V. alginolyticus*, *V. giganteis*, то летом высевали только *V. alginolyticus*. Наряду с альгинолитическим вибрионом в микробиоте устриц озера Донузлав (3, рис. 1) преобладал *V. harveyi*, их доля составила 46% и 38% от выделенных изолятов. В хозяйствах Черного моря альгинолитические и парагемолитические вибрионы составляли более половины выделенных изолятов. Следует отметить, что парагемолитический вибрион был обнаружен и в устрицах, культивируемых на озере Донузлав (3, рис. 1) у 13% особей в обследованной выборке. Поскольку устрицы употребляются без термической обработки, присутствие парагемолитического вибриона представляет опасность для здоровья человека.

Физиолого-биохимические показатели устриц, отобранных в одни и те же сроки в разных акваториях Черного моря, продемонстрировали высокую дисперсность и невыраженную зависимость активности ферментативных систем в зависимости от условий обитания. Предполагаем, что это связано, прежде всего, с недостаточным объемом проанализированных выборок устриц, отобранных на разных хозяйствах.

В отношении географии расположения устричных хозяйств уровень активности ферментного и низкомолекулярного звена системы антиоксидантной защиты организма от окислительного стресса в весенний сезон 2020 г. был выше у особей из хозяйств, расположенных на оз. Донузлав (3, рис. 1), что свидетельствовало о менее благоприятных факторах культивирования устриц в этом водоеме по сравнению с содержанием непосредственно в море (1, 2, 4, рис. 1).

В сезонном аспекте уровень активности специализированных антиоксидантных ферментов, обезвреживающих разные виды активных форм кислорода в летний сезон 2020 г. был ниже по сравнению с весенним периодом, что свидетельствовало о более благоприятных факторах культивирования устриц исследуемых водоемах.

На основании эмпирических данных были получены значения диапазонов (референсные диапазоны), в границах которых моллюски условно считаются здоровыми: адаптационные механизмы находятся в активном состоянии, продукты перекисного окисления липидов не накапливаются до критических значений. В качестве референсных считали диапазон значений между первой и третьей квартилями, в который попадают 50% наиболее типичных по конкретному показателю особей. Значения диапазонов представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Значения референсных диапазонов значений по исследованным биохимическим показателям

	ГЕПАТОПАНКРЕАС	ЖАБРЫ
Май		
МДА	2,07 – 2,85	3,75 – 5,69
Супероксиддисмутаза	5,64 – 13,48	4,69 – 18,59
Каталаза	194 – 435	13,8 – 91,67
Ацетилэстераза	15,79 – 21,09	6,77 – 10,88
Восстановленный глутатион	253 – 510	282 – 407
Глутатион-S-трансфераза	140 – 319	587 – 1066
Глутатионредуктаза	2,7 – 8,47	2,07 – 7,98
Глутатионпероксидаза	73 – 186	44 – 268
GSH/МДА	0,111 – 0,343	0,051 – 0,085
АВГУСТ		
МДА	0,9 – 1,25	3,06 – 3,85
Супероксиддисмутаза	2,23 – 3,71	3,77 – 15,94
Каталаза	136 – 196	37,9 – 59,22
Ацетилэстераза	29,07 – 38,67	14,91 – 17,07
Восстановленный глутатион	99 – 129	241 – 872
Глутатион-S-трансфераза	183 – 257	506 – 813
Глутатионредуктаза	0,312 – 3,434	1,08 – 3,36
Глутатионпероксидаза	198 – 290	205 – 745
GSH/МДА	0,079 – 0,135	0,071 – 0,204

**Заключение.** Проведенные исследования являются начальным этапом изучения здоровья гигантской устрицы из марикультурных хозяйств Черного моря России. Получен перечень наиболее распространенных паразитарных и инфекционных заболеваний, с учетом которого можно планировать как профилактические, так и лечебные мероприятия. Данные биохимических исследований позволили расчетным путем на основе эмпирических данных определить референсные диапазоны значений активности ферментов антиоксидантного комплекса в целях диагностики общего состояния моллюсков.

#### **Список использованных источников**

1. Гаевская А. В., Лебедовская М. В. Паразиты и болезни гигантской устрицы (*Grassostrea gigas*) условиях культивирования / А. В. Гаевская, М. В. Лебедовская, Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2010. 218 с.
2. Королюк М. А. [и др.]. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16–19.
3. Пиркова А. В., Ладыгина Л. В., Холодов В. И. Биологические и биотехнические аспекты организации и функционирования устричного питомника на Черном море / А. В. Пиркова, Л. В. Ладыгина, В. И. Холодов, Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН-е изд., Севастополь: ФИЦ ИнБЮМ, 2020. 120 с.
4. Слободскова В. В., Лескова С. Е., Челомин В. П. Оценка физиологического состояния культивируемых гидробионтов *Mizuhopecten yessoensis* // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2015. № 6 (17). С. 40–44.
5. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты М: Медицина, 1977. С. 67–78.
6. Таборский Д. А. [и др.]. Оценка состояния культивируемых мидий *Mytilus edulis* L. в районе острова Соностров (Белое море, Кандалакшский залив) // Альманах современной науки и образования. Тамбов: Грамота. 2007. № 6 (6). С. 136–142.
7. Шкорбатов Г. Л., Старобогатов Я. И. Методы изучения двустворчатых моллюсков // Труды зоологического института. 1990. № 219. С. 153–171.
8. Методические указания по санитарно-микробиологическому контролю черноморских мидий и устриц. Утв. Минрыбхозом СССР 24.03.1983 (с изм. от 31.12.1987) 1983.
9. МУК 4.2.2046-06 Методы выявления и определения паразитических вибрионов в рыбе, нерыбных объектах промысла, продуктах, вырабатываемых из них, воде поверхностных водоемов и других объектах М: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006. 26 с.
10. ГОСТ 31339-2006 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб М: Стандартинформ, 2010.