

УДК 639
ББК 47.2
Н72

Н72 Новейшие генетические технологии для аква-культуры: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Москва, МВЦ «Крокус Экспо», 29 – 31 января 2020 г). – М.: Издательство «Перо», 2020. – 350 с. – Мб. [Электронное издание]. – Систем. требования: процессор x86 с тактовой частотой 500 МГц и выше; 512 Мб ОЗУ; Windows XP/7/8; видеокарта SVGA 1280x1024 High Color (32 bit). – Загл. с экрана.

ISBN 978-5-00171-087-5

В сборнике представлены материалы Международной научно-практической конференции с международным участием «Новейшие генетические технологии для аквакультуры» проходившей в г. Москва, МВЦ «Крокус Экспо», 29 – 31 января 2020 г в рамках выставки «Agros 2020».

УДК 639
ББК 47.2

ISBN 978-5-00171-087-5

© Авторы статей, 2020

К ВОПРОСУ О ПРОФИЛАКТИКЕ И БОРЬБЕ С МИКОЗАМИ РЕЧНЫХ РАКОВ

Александрова Е.Н.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного
рыбоводства», e-mail: fish-vniir@mail.ru

TO THE QUESTION ON PREVENTION AND STRUGGLE AGAINST MYCOSES OF CRAYFISH

Alexandrova E.N.

Резюме. Чтобы предотвратить вспышки грибковых инфекций в водоемах, населенных речными раками, рекомендуется: проводить постановку биопроб на афаномикоз - чуму речного рака; определять встречаемость раков с признаками микоза, называемого ржаво-пятнистой болезнью (РПБ); не допускать - использования зараженного мукориозом кормового зерна; попадания в водоем сточных вод с возбудителями фузариоза, и предотвращать чрезмерный рост численности рачных популяций. При разработке этих мере учитывалось следующее: способность патогенных оомицетов быстро заражать раков мобильными зооспорами, высокая жизнеспособность патогенных хламидоспор *Saprolegnia parasitica* и оогоний *Aphanomyces astaci*, - факторов сохранения инфекции в водоемах, препятствующих восстановлению популяций речного рака после вспышек заболеваний.

Ключевые слова: речные раки, афаномикоз, сапролегниоз, мукориоз, фузариоз, зооспоры, мониторинг

Summary. In order to prevent outbreaks of fungal infections in water bodies with crayfish we recommend to perform a bioassay on the disease of crayfish with aphanomycosis (crayfish plague); determine the incidence of crayfish with signs of mycosis called burn-spot disease (BSD); check for contamination of coarse grains with agents of mucoriososis; oppose the ingress into the water bodies of waste water from cultivated fields carrying agents of fusariosis; prevent over consolidation of crayfish population. These measures are taking into account the ability of pathogenic oomycetes to quickly infect crayfish with mobile zoospores, long-term viability of chlamydospores (gemmae) of *Saprolegnia parasitica* and oogonia of *Aphanomyces astaci*. These factors support the infection in the water bodies and prevent the recovery of crayfish populations after outbreaks of mycoses.

Key words: crayfish, aphanomycosis, saprolegniosis, mucoriososis, fusariosis, zoospores, monitoring

Введение

Речные раки семейства Astacidae подсемейства Astacinae Latreille, 1802 (далее астадины) - нативные обитатели водоемов Западной Европы, Европейской части Российской Федерации, некоторых регионов Азии, и относятся к числу ценных объектов промысла и культивирования. В конце 19-го – начале 20-го веков запасы астадин в водоемах Финляндии и Северо-запада России обеспечивали до половины всей ракопродукции, реализуемой за год на рынках Западной Европы. В настоящее время из-за снижения запасов астадин в российских водоемах эти раки являются объектами внутреннего потребления и для экспорта в страны Западной Европы уже не используются. Одна из причин сокращения запасов российских астадин - распространение в популяциях астадин заболеваний микозами, возбудители которых относятся к псевдо, или ложным грибам класса оомицетов, и к настоящим грибам из рода *Mucor* и рода *Fusarium*. Признак заболевания рака микозом - возникновение на покровах его тела и на жабрах меланизированных пятен ржаво-бурого или желтоватого цвета.

Оомицет Aphanomyces astaci Schikora 1906 - возбудитель афаномикоза, или рачьей чумы - поражает европейских, азиатских и австралийских речных раков, поселяясь преимущественно в тканях эктодермального происхождения [1]. Появление в водоемах Европы крайне опасного для астадин оомицета связано с мероприятиями по интродукции североамериканских речных раков, проводившихся в Швеции и других европейских странах. Вызываемое этим оомицетом заболевание заканчивается гибелью популяции астадин и носит характер эпизоотии. Осевшие на покровы или на жабры астадин цисты оомицета, образуют мицелий, проникающий в тело рака, что инициирует запуск каскада иммунных реакций. В результате чего вырабатывается меланин - конечный продукт окисления профенолоксидазы-, который доставляется к местам внедрения возбудителя в тело рака и к его мицелию, вызывая их меланизацию. Подобный ответ иммунной системы на инфицирование наиболее эффективен у североамериканских речных раков. Последние, будучи зараженными оомицетом и оставаясь вполне жизнеспособными, делают его носителями, что и является причиной быстрого заражения чумой при контактах с ними не иммунных к афаномикозу астадин [1]. Этот облигатный паразит европейских астадин был впервые описан чешским исследователем в 1903 г., но в качестве агента рачьей чумы признан только в 1934 г. В настоящее время известны четыре очага афаномикоза, из которых три находятся в Северной Европе, а один – в Испании [1]. В СССР вселение в естественные водоемы сигнального рака проводилось в 1970-1980 гг. в Литве и Латвии, но не получило большого размаха, поскольку было установлено, что в водоемах Европы контакты нативных астадин с североамериканскими экзотами часто заканчиваются вспышками афаномикоза [2].

Если изучению афаномикоза уделяют большое внимание в виду его крайней опасности для астацин, то микозы с хроническим проявлением, объединяемые в России под общим названием ржаво-пятнистая болезнь (РПБ), возникающие при наличии травм у раков, при высокой плотности рачной популяции, при загрязнении водоемов и т.д., остаются малоизученными.

Ржаво-пятнистая болезнь (РПБ) речных раков и её возбудители. Первое сообщение о РПБ раков в России появились в 1875 г.; в Европе о пятнистости на покровах раков как о болезни ожоговых пятен - burn-spot disease (BSD) - упоминается с 1900 г. Незначительная встречаемость РПБ отмечена почти в каждой популяции речных раков. Повышение встречаемости РПБ в рачных популяциях сказывается на качестве раков и вредит торговле ими: в странах Европы: раков с такими поражениями в продажу не принимают [3].

О РПБ речных раков, вызываемой оомицетом *S. parasitica*, известно немного. Считается, что меланин, вырабатываемый иммунной системой длиннопалого рака *Pontastacus leptodactylus* (= *Astacus. leptodactylus*), может в известной степени подавлять рост сапролегнии. Испанские астакологи определяли возможность инфицирования европейского широкопалого рака (*Astacus astacus*) и двух североамериканских видов - сигнального рака (*Pacifastacus leniusculus*) и красного болотного рака (*Procambarus clarkii*) - спорами сапролегнии, изолированными от длиннопалого рака [4]. Заражение раков начиналось с оседания на их покровы зооспор сапролегнии и прорастания мицелия из цисты в тело рака через кутикулу. Через 4 недели после начала эксперимента заразилось и погибло 20% здоровых раков. Смертность раков увеличивалась приблизительно в 3 раза, и происходила в течение первой недели после осеменения зооспорами при повреждении их абдоминальной кутикулы путем её стирания абразивным материалом. При осмотре погибших раков мицелий *сапролегнии* был обнаружен в некротизированной ткани под кутикулой, а у некоторых экземпляров гифы были найдены в нервном тяже. Поражение сапролегнией считается возможной причиной гибели популяций *Atlantoastacus pallipes* (= *Austropotamobius pallipes*) в Испании. Однако вопрос о способности *S. parasitica* вызывать у речных раков в природных условиях заболевание повышенной летальности, подобное афаномикозу, в настоящее время остается открытым.

Патогенные воздействия оомицетов и настоящих грибов на организм раков различны. Если мицелий оомицетов разрушает организм рака путем проникновения и разрастания в его теле, то мицелий настоящих грибов, внедрившись в тело рака, выделяет опасные для его жизни токсины, которые, снижая активность метаболических процессов, приводят к его гибели. Быстрая гибель «хозяина» в этих случаях может указывать на факультативный характер паразитизма настоящих грибов. Отсюда вытекает необходимость постановки

точного диагноза возбудителей микозов рака, основанная на определении видовой принадлежности возбудителя заболевания [5].

В результате изучения микозов европейских астацин в довоенный и послевоенный периоды XX века описано 16 видов возбудителей этих заболеваний из числа ложных и настоящих грибов. Однако, проводя ревизию системы настоящих грибов, Вальтер Гамс [6], Ольдерман [7] и другие специалисты-микологи столкнулись с затруднениями при диагностике некоторых описанных ранее возбудителей рачьих микозов, а также и с тем, что далеко не все из них удалось обнаружить. Обзор современного систематического положения этих возбудителей по базам номенклатурных данных (Mycobank, Index Fungorum и др.) показал, что в настоящее время т.н. «хорошими видами» считают 4 вида оомицетов, а из числа настоящих грибов - 2 вида из рода *Mucor* и 5 видов из рода *Fusarium* [5]. Названия пяти остальных, описанных ранее патогенных видов грибов, признаны сомнительными (*nomen confusum*) или имеющими неопределенный систематический статус (*nomen invalidum*). Типовой материал по этим видам в настоящее время неизвестен [5].

Цель настоящих исследований – обозначить мероприятия по охране здоровой среды в рачьих водоемах, основанные на биологических особенностях возбудителей микозов речных раков.

Материал и методика

Использованы данные о распространении ржаво-пятнистой болезни раков в водоемах Средней Волги, бассейнов рек Мсты и Великой, а также при содержании раков в искусственных условиях – в емкостях рыбоводных хозяйств и в аквариумах. О распространении РПБ в водоемах судили по встречаемости в выборках из популяций раков с темными пятнами. Для идентификации видовой принадлежности возбудителя микоза раков микроскопировали осветленные соскобы с тканей, расположенных возле темных пятен РПБ [8]. Признаки мицелиев, спорангиеносцев, хламидоспор и прочих структур возбудителя сравнивали с их описаниями по диагностическому ключу, составленному К.Л. Тарасовым [9]. Мицелии сапролегнии и мукора из соскобов с ткани возле пятен РПБ были выращены на микробиологической среде Чапека ветеринарным врачом Е.А. Комаровой в Пустошкинской ветлаборатории Псковской области. Идентификация возбудителей велась по изготовленным в ветлаборатории окрашенным препаратам [9]. Сведения о биологических особенностях возбудителей астацин были собраны из публикаций по вопросам микологии и проанализированы.

Результаты исследований

Из 16 видов возбудителей заболеваний астацин, представленных в описаниях, к т.н. ложным грибам (царство Straminopila, отдел Oomycota) принадлежат 4 вида - *Aphanomyces astaci* (сем. Leptolegniaceae), *Saprolegnia*

parasitica, *S. australis* и *Scoliolegnia asterophora* (сем. Saprolegniaceae). В таксономическом плане этих возбудителей микозов раков относят к числу «хороших» видов. Последние два вида семейства Saprolegniaceae идентифицированы недавно методом геносистематики [3]. Если патогенность *A. astaci* и *S. parasitica* подтверждена многочисленными исследованиями то, сведения о свойствах *Saprolegnia. australis* и *Scoliolegnia asterophora* как о возбудителях РПБ у астацин пока не известны.

Основные инфекционные единицы патогенных оомицетов - подвижные зооспоры вегетативного происхождения, которые оседают на покровы речных раков, инцистируются и образуют мицелий, проникающий в тело рака. Плавающие зооспоры *A. astaci* обладают хемотаксисом, клейкостью к субстрату, в частности, к эпикутикуле рака, и имеют большую способность к распространению. Зараженные *A. astaci* раки до и после смерти являются источниками большого числа зооспор, плавающих и ищущих новых хозяев.

Проблема, значимая не только для видовой идентификации возбудителей микозов, но и для обоснования профилактических мероприятий по восстановлению рачных популяций после эпизоотий, связана с вопросом о существовании у паразитических оомицетов спор полового размножения, способных к длительному выживанию в водоеме [1]. Сторонники отсутствия способных к длительному выживанию ооспор у паразитических оомицетов предлагают проводить реинтеграцию рачных популяций в пострадавшие от афаномикоза водоемы в короткие сроки, основываясь на непродолжительности выживания зооспор *A. astaci* [1]. Однако при определении сроков начала мероприятий по реинтеграции рачной популяции в водоем, в котором произошла вспышка эпидемии чумы раков, стоит учитывать данные Раннерфельта [2], и латвийских микологов L.K.Grapmane and L.D.Kayre [10]. Последние от материала из гидробиологических проб, отобранных в неблагоприятном по афаномикозу водоеме, вырастили колонии оомицета по морфологии и по губительному воздействию на здоровых раков напоминающие культуру *A. astaci* [10].

В настоящее время признаны следующие меры борьбы профилактического характера с эпизоотиями афаномикоза в водоемах:

- запрет на использование орудий лова, применявшихся в неблагоприятных по микозам водоемах;
- срочный вылов раков и изымание погибших экземпляров при подозрении на вспышку афаномикоза;
- постановку серии биопроб на афаномикоз в водоемах, которые планируется использовать для раководства. С этой целью здоровых раков помещают в садки, в которых их содержат на протяжении 2-3 месяцев, создавая нормальные условия для их жизни (кормление, обеспечение убежищами, плотность посадки не более 6 экз./м²). Садки следует размещать в разных местах

водоема и регулярно осматривать. Отрицательные результаты биопроб свидетельствуют в пользу пригодности водоема для раководства. Вселение посадочного материала раков в неблагоприятный по афаномикозу водоем следует запрещать на срок порядка 5 лет [4].

Нативный оомицет евразийских водоемов *S. parasitica* известен как паразит рыб. Сапролегниоз раков возникает при повышенной плотности их содержания в бассейнах, прудах, аквариумах, при загрязнении водной среды. Особо опасно это заболевание в периоды линек раков. Высокую патогенность сапролегнии обуславливают ее способность давать в вегетационный период несколько поколений зооспор и формировать при неблагоприятных условиях зимующие хламидоспоры – геммы [4].

Меры противодействия сапролегниозу:

- выращивание раков в монокультуре (без рыбы);
- создание препятствий проникновению в водоем дикой рыбы;
- обсушивание и санитарная обработка прудов и емкостей после их использования для содержания раков;

- контролировать численность рачной популяции в целях принятия мер, противодействующих её переуплотнению. (Методы определения численности половозрелой части популяции приведены в соответствующих справочниках).

Другими возбудителями РПБ у астацин считаются не менее 12 видов настоящих грибов (царство Fungi), из которых 2 вида грибов принадлежат роду *Mucor* (отдел Zygomycota, класс Zygomycetes), и 10 видов грибов относятся к разным классам отдела Ascomycota (сумчатые грибы).

Два вида патогенных грибов из рода *Mucor* относятся к «хорошим» видам. *M. racemosus* обнаружен в образцах от меланизированных пятен на теле широкопалого рака (*A. astacus*) из водоемов Псковской области и острова Сааремаа [3]. *M. hiemalis* идентифицирован методом геносистематики в образцах от *A. astacus* из водоемов о-ва Сааремаа [3].

Остальные 10 видов настоящих грибов - возбудителей микозов астацин-принадлежат разным классам отдела Ascomycota. Из них 9 видов зарегистрировано в Микобанке, и один вид – *Septocylindrium astaci* Udalov 1973 - в номенклатурных базах не фигурирует.

Из 9 зарегистрированных в номенклатурных базах сумчатых грибов видовые статусы признаны достоверными у 6 видов, и у 3-х видов - недостоверными («invalid»). Из 5 видов сумчатых грибов, считающихся «хорошими» видам анаморфного рода *Fusarium*, только *F. tabacinum* был достоверно идентифицирован доктором С. Booth - специалистом по этому роду [11]. Четыре других видов фузарий - *F. melanochlorum*, *F. oxysporum*, *F. semitectum* (*F. roseum* var. *culmorum*), *F. solani* - в литературе только упоминаются

как возможные возбудители микозов астацин, но сведения о них в этом качестве не известны.

Роль настоящих грибов в возбуждении микозов менее известна по причинам недостатка микробиологических исследований и трудности идентификации этих возбудителей раков, в частности, видов *Fusarium* [9 и др.]. РПБ раков, вызванная сумчатыми грибами, возникает при наличии травм у раков, при высокой плотности рачной популяции, при загрязнении водоемов. Заболевание может носить временный характер и полностью исчезать при улучшении качества среды в водоеме. Известно о встречаемости мукориоза раков в культурных условиях, где источником заболевания может стать использование в качестве корма зерна, зараженного *Mucor racemosus* [3]. Фузариозы возникают у раков, получивших травмы в водоемах, в которых ведется сетной лов рыбы, и куда поступают стоки с агрополей, содержащие хламидоспоры и другие структуры фузарий, основное местообитание которых – почва.

Меры противодействия мукориозу и фузариозу:

- не допущение сетного лова рыбы в рачных водоемах из-за травмирования раков при их изъятии из рыболовных сетей;
- недопущение в рачные водоемы стоков с агрополей, содержащих хламидоспоры и другие структуры фузарий;
- термическая обработка кормового зерна.

Заключение

Изучение болезнетворных свойств возбудителей микозов речных раков в целях определения мер по противодействию этим заболеваниям, наносящим большой вред ценным запасам нативных евразийских речных раков подсемейства *Astacinae*, а также природоохранные соображения, показывают необходимость дальнейших исследований биологии патогенных ложных и настоящих грибов, включая совершенствование методов их таксономической идентификации.

Список использованных источников

1. Söderhäll, K, & Cerenius, L. The crayfish Plague Fungus: History and Recent Advances // *Freshwater Crayfish* 12, 1999.- pp.11-35
2. Rennerfeld R. Untersuchungen über die Entwicklung und Biologie des Krebspestpilzes *Aphanomyces astaci* Schikora // *Mitteil. der Anst. f. Binnenfischerei bei Drottningholm, Stockholm*, 1936. 10, p 1-21
3. Makkonen J., Kokko H., Henttonen P., Kivistik M., Huri M., Paaver T. and Jussila J. Fungal isolation from Saaremaa, Estonia: Noble Crayfish (*Astacua astacus*) with Melanised Spots // *Freshwater Crayfish* 17 p 155-158

4. Diéguez-Uribeondo, J., Cerenius L., Söderhäll, K. *Saprolegnia parasitica* and its virulence on three different species of freshwater crayfish //Aquaculture.- 1994.- Vol. 120, Iss. 3-4.-P. 219-228.
5. Тарасов К.Л., Александрова Е.Н. Мицелиальные грибы – возбудители микозов речных раков и их современная таксономия // Микология и фитопатология, 2015, т. 49, № 6. С.366-373.
6. Gams W. *Cephalosporium-like mycelial fungi (Hyphomycetes)*. Stuttgart Gustav Fischer 1971 261 p
7. Alderman D.J. Geographic extension of bacterial and fungal diseases of crayfish //Rev. Scientifique et Technique/Off. Internat. des Epizooties. 1996. 15 (2): s. 603-632
8. Александрова Е.Н., Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. О типах гемоцитов российских речных раков (*Decapoda, Astacinae*): Сб. научн.тр. «Вопросы рыбного хозяйства Беларуси», вып.24/ РУП «Институт рыбного хозяйства»-Минск, 2008.- с. 237-240.
9. Александрова Е.Н., Тарасов К.Л. Пособие-определитель. Микозы речных раков и диагностика их возбудителей - Изд-во Биофак МГУ им. Ломоносова. Москва, 2019, 44 С. **ISBN 9 785950 0298-75**.
10. Grapmane L K and Kayre L D 1968 Limnologia. Materialy 14 konferentsii po izucheniyu vnutrennikh vodoemov Pribaltiki. Institut Biologii AN Latvyskoy SSR. 3 2 Riga p 24-26.
11. Alderman D.J. and Polglase J.L. *Fusarium tabacinum* (Beyma) Gams, as a gill parasite in the crayfish *Austropotamobius pallipes* // J. Fush. Dis. 8, 1985. pp. 249-52.