

На правах рукописи

СТЕКОВА Валентина Васильевна

**Морфофизиологическое состояние краба-стригуна опилио
(*Chionoecetes opilio*; Brachyura: Majidae) в водах Сахалина
в связи с патогенетическим воздействием на него
некоторых организмов эпibiоза**

Специальность 03.00.18 – гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва-2003

Работа выполнена в лаборатории болезней рыб ФГУП «Сахалинский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (СахНИРО) Госкомрыболовства России.

Научный руководитель: доктор биологических наук
Головина Н. А.

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Безносков В. Н.;

кандидат биологических наук
Иванов Б. Г.

Ведущая организация: Камчатский научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства и океанографии
(КамчатНИРО)

Защита состоится 19 декабря 2003 г. в 12 часов на заседании диссертационного совета К 212. 122. 03 при Московской государственной технологической академии по адресу: 117149, г. Москва, ул. Болотниковская, д. 15.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Московской государственной технологической академии (МГТА).

Автореферат разослан 18 ноября 2003 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат биологических наук

Николаева И. Ф.

2003-4
19224

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Морские биоресурсы составляют одно из основных богатств Сахалинского региона. Придонные биоценозы побережий острова включают в себя большое число ценных объектов промысла, одним из которых являются крабы-стригуны (р. *Chionoecetes*). Стригуны широко распространены в зоне шельфа и свала северной части Тихого океана и представлены в Сахалино-Курильском регионе пятью видами, из которых наибольшая промысловая нагрузка приходится на опилио.

Исследования, направленные на изучение распределения в регионе и биологии краба-стригуна опилио дальневосточных морей, были начаты в конце 1970-х годов (Родин, 1975; Родин, Слизкин, 1977; Слизкин, 1978, 1982; Слизкин, Мясоедов, 1979; Федосеев, 1988; Федосеев, Слизкин, 1988; Первеева, 1996; Иванов, 1994, 1997; и др.). В результате чего к настоящему времени выявлены основные особенности структуры популяций, определена их численность и изучены черты биологии дальневосточных стригунов. Однако характеристика популяции не может быть полной без анализа уровня морфофизиологических отклонений особей в онтогенезе, причин возникновения их патологических изменений и влияния на ее состояние в целом в настоящий период и прогнозирования ситуации в будущем. Морфологические изменения у стригунов часто проявляются в виде многочисленных травм, до 90% из которых связаны с отсутствием конечностей вследствие аутотомии или хэндлинга при поимке и возвращении крабов в морскую среду (Селин, 1998). Было показано, что высокая травмированность оказывает влияние не только на эффективность промысла, но и на физиологическое состояние животного, а следовательно, и на эпизоотическую обстановку всей популяции (Juanes, Smith, 1995).

Особо следует отметить необходимость исследования взаимоотношений крабов с другими гидробионтами ареала, в том числе симбионтами. Обычные на внешних покровах обрастатели способны изменять морфологию краба, но до настоящего времени нет достаточного анализа эпibiоза крабов-стригунов Сахалинского региона. Морфофизиологические изменения часто вызываются условно-патогенными микроорганизмами, чья численность в морской воде и на внешних покровах крабов довольно значительна. Указанные изменения создают проблемы для добывающих предприятий. В связи с этим возникает необходимость изучения эпизоотической ситуации в популяциях стригунов Сахалинского региона.

Цели и задачи исследования. Целью данной работы являлось выявление морфофизиологических изменений и исследование физиологических нарушений в результате взаимоотношений с некоторыми организмами эпibiоза у краба-стригуна опилио в Сахалинском регионе.



Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Определить морфологические и биологические характеристики краба-стригуна опилио в Сахалинском регионе.
2. Выявить основные морфофизиологические изменения у краба опилио под влиянием ряда биотических факторов.
3. Определить уровень травмированности и рассмотреть особенности регенерации конечности у краба опилио.
4. Изучить формирование эпибиотических сообществ на крабах опилио и выявить доминантные и субдоминантные компоненты эпибиоза.
5. Охарактеризовать взаимоотношения бактерий рода *Pseudomonas* и краба-стригуна опилио. Определить степень пораженности некрозом панциря крабов Японского и Охотского морей.
6. Оценить воздействие на популяцию крабов микроскопических грибов *Trichomarix invadens*.

Научная новизна. На большом многолетнем фактическом материале оценены взаимоотношения различных групп гидробионтов с крабом опилио. Впервые определены уровень седвазии эпибионтами краба-стригуна опилио Сахалинского региона, процесс формирования эпибиоза и выявлены взаимоотношения краба с пиявками и их коконами. Впервые определено воздействие на физиологическое состояние краба-стригуна опилио Сахалина патогенных микроорганизмов, выявлен видовой состав бактерий и определен этиологический агент бактериальной хитинолитической болезни панциря. Впервые в российских водах у краба опилио зарегистрировано заболевание микозной природы – хитинолитическая грибковая болезнь. Рассмотрена по стадиям картина регенерации конечностей у стригуна опилио.

Практическое значение. На основе полученных данных проведена оценка уровня поврежденности конечностей и пораженности заболеваниями бактериальной и микозной природы крабов в популяциях Японского и Охотского морей, омывающих западное и восточное побережья Сахалина. Оценена эпизоотическая ситуация в этих районах. Крабодобывающим предприятиям рекомендованы некоторые профилактические меры оздоровления популяций крабов при их промысле и рекомендации по использованию больных крабов.

Апробация. Результаты исследований были доложены на: отчетной сессии ученого совета СахНИРО, Южно-Сахалинск, 2001 г.; отчетной сессии ученого совета ТИНРО-центра, Хабаровск, 2002 г.; 10-й Международной конференции EAAP, Дублин (Ирландия), 2001 г.; 26-й российско-японской конференции по исследованию прибрежных вод Дальнего Востока, Южно-Са-

халинск, 2003 г.; Памятных научных чтениях к 85-летию профессора В. А. Мусселиус-Богоявленской, ВНИИПРХ, 2003 г.; расширенном коллоквиуме кафедры биоэкологии и ихтиологии МГТА, 2003 г.

Публикации. Основные результаты исследований по теме диссертации отражены в семи публикациях.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 137 страницах машинописного текста, включая 39 таблиц, 53 рисунка, и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, результаты исследований (пять глав с подглавами), выводы и список литературы, включающий 161 источник, из которых отечественных – 77 и иностранных – 84.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Некоторые аспекты биологии и состав эпibiоза крабов-стригунов (обзор литературы)

Стригуны относятся к семейству Majidae подотряда Brachyura. В дальневосточных морях краб-стригун опилио встречается повсеместно в зоне, где придонная температура воды колеблется от $-1,8$ до $+7,0$ градусов на глубинах от 18 до 600 м (Слизкин, 1982). Он имеет большое промысловое значение, и суммарный вылов в морях Дальнего Востока России в 2000 г. достигал 15,4 тыс. т (Иванов, 2001).

Наиболее яркое морфологическое изменение крабов – травмированность, которая большей частью проявляется в виде отсутствия одной или нескольких конечностей. Повреждение конечностей влияет на продолжительность личинных периодов, снижает эффективность нагула, успешность спаривания и увеличивает уязвимость животного при нападении хищников (Juanes, Smith, 1995). Отмечается, что у промысловых крабов постоянно утрачиваются конечности вследствие принятой техники их добычи, и на отдельных участках более половины особей травмированы (Иванов, 1994, 1997, 2001; Селин, 1998; Вялова, 1999; Кочнев, 2000; и др.).

Внешний вид крабов изменяют различные эпibiонты, которые появляются у крабов вскоре после линьки (Виноградов, 1941; Клитин, Лабай, 2002). Кроме многощетинковых червей р. *Spirorbis*, усоногих раков р. *Balanus*, мшанок кл. Вгузоа, гидроидов и водорослей на карапаксе и конечностях крабов в большом количестве находятся пиявки сем. *Piscicolinae* – *Notostomum cyclostomum* (Johansson, 1898) и *Crangonobdella fabricii* (Malm, 1863) и их коконы. Пиявки являются паразитами рыб, а крабов используют только для откладки коконов (Эпштейн, 1962, 1968; Эпштейн, Утевский, 1996; Sloan et al., 1984; Khan, Paul, 1995).

Взаимоотношение с некоторыми морскими микроорганизмами, обладающими хитинолитическими свойствами, – *Vibrio spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Aeromonas spp.*, *Photobacterium sp.* и другими, часто приводит к физиологическим изменениям у крабов. Эти бактерии вызывают тяжелое заболевание у ракообразных – бактериальный некроз панциря (Malloy, 1978; Wardlaw, Unkles, 1978; Noga et al., 1996; Noga et al., 2000; и др.).

Заражение крабов хитинолитическим грибом кл. *Ascomycetes Trichomaritis invadens* вызывает заболевание Black mat syndrome (BMS) (черно-матовый синдром). После заражения гифы гриба проникают через экзоскелет, инфицируют многие внутренние органы, что приводит к летальному исходу (Robichaud, 1988; Bower et al., 1994).

Глава 2. Материал и методика

В период с 1996 по 2001 год проводился сбор материала в Охотском и Японском морях в шельфовой зоне Сахалина (рис. 1).

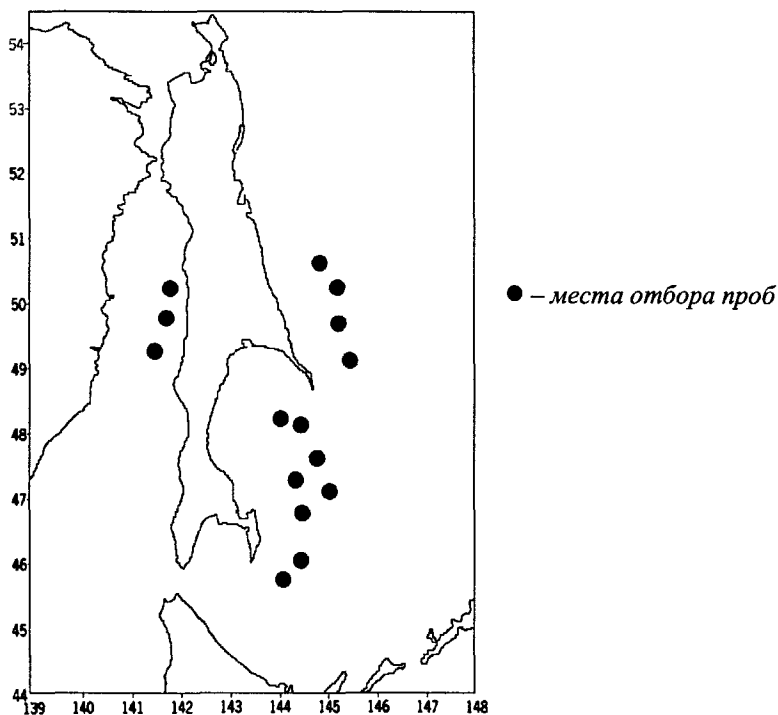


Рис. 1. Район исследований краба-стригуна опилио в 1996–2001 гг.

Были использованы клинические, патологоанатомические, бактериологические и микологические методы исследований краба. Всего было исследовано 18730 экз. крабов (табл. 1.).

Таблица 1. Объем исследованных крабов-стригунов опилио в 1996–2001 гг. (в экз.)

Район исследований	Метод исследований						
	биологический, из них/клинический			патологоанатомический		бактериологический посев, экз. крабов/ число проб	
	самцы	самки	всего	самцы	самки	самцы	самки
Охотское море	13256/ 11455	1147/ 1147	14403/ 12602	50	15	50/144	15/43
Японское море	3307/ 3307	1020/ 1020	4327/ 4327	21	–	11/30	–
ВСЕГО	16563/ 14762	2167/ 2167	18730/ 16929	61	15	61/174	15/43

Крабы вылавливались с помощью специальных ловушек японского типа, с использованием приманок. С одного порядка (собранные на одну хребтину 100 ловушек, интервал между которыми около 20 м) исследовалось не менее 50 экз. крабов. При этом проводили биологический анализ, включающий измерения наибольшей ширины карапакса, определение пола и стадии личиночного цикла.

Мы выделяли пять стадий личиночного цикла: первую, вторую, третью раннюю, третью позднюю и четвертую по состоянию панциря: его плотности, цвету, наличию на карапаксе обрастателей и другим признакам.

Клинический осмотр проводили параллельно с биоанализом. У каждой особи фиксировали все патологические изменения на внешних покровах и отмечали число недостающих конечностей.

Первичные бактериологические и микологические посевы проводились на питательные среды общего назначения, дальнейшее выделение и идентификация возбудителей осуществлялись на дифференциально-диагностические среды, приготовленных как стандартным способом, так и на морской воде.

Глава 3. Биологическая характеристика краба-стригуна опилио Сахалинского региона

Средняя ширина карапакса самцов опилио Японского моря составляла $11,8 \pm 0,03$ см при амплитуде 7,2–17 см (табл. 2). В Охотском море размеры карапаксов самцов были достоверно ниже: минимальный и максимальный размеры – 5,6–15,4 при среднем размере $10,8 \pm 0,01$ см. Средний размер карапакса самок также был достоверно выше в Японском море, чем в Охотском, – $8,4 \pm 0,02$ см (6,4–10,5 см) и $7,2 \pm 0,03$ см (5,5–9,6 см) соответственно.

Таблица 2. Морфологические характеристики крабов-стригунов Сахалинского региона (ширина карапакса, см)

	Самцы		Самки	
	средняя	min-max	средняя	min-max
Охотское море	$10,8 \pm 0,01$	5,6–15,4	$7,2 \pm 0,03$	5,5–9,6
Японское море	$11,8 \pm 0,03$	7,2–17	$8,4 \pm 0,02$	6,4–10,5
t_{st} по Стьюденту	31,25*	–	33,33*	–

*Различия достоверны по 0,1%-ному уровню значимости ($p < 0,001$).

В период исследования в Охотском море на второй стадии личиночного цикла было 30% самцов, на третьей ранней – 64,3% и на третьей поздней – 6,9%. Исследования в Японском море показали, что на третьей ранней стадии личиночного цикла также находилась большая часть всех самцов – 88,5%, 6,5% было на третьей поздней и только 4,8% на второй (табл. 3).

Таблица 3. Биологические характеристики самцов краба-стригуна опилио Сахалинского региона в сентябре–декабре 1997–2001 гг.

Район исследований	Параметры	Стадии личиночного цикла			
		вторая	третья ранняя	третья поздняя	четвертая
Охотское море	Число крабов, экз.	2706	6055	651	5
	Доля, %	28,7	64,3	6,9	0,04
Японское море	Число крабов, экз.	159	2927	216	5
	Доля, %	4,8	88,5	6,5	0,15

Почти все исследованные самки были половозрелыми и несли под абдоменом икру оранжевого цвета.

Глава 4. Травмированность краба-стригуна опилио в Японском и Охотском морях

Крабам свойственна аутономия, когда при экстремальных ситуациях, в сражениях с соперниками или при механических повреждениях, у животных надламывается конечность в строго определенном сочленении. По нашим наблюдениям, одним из самых распространенных видов травм являются повреждения и утрата ходильных или клешненосных конечностей. В уловах при ловушечном лове встречались особи без четырех-шести конечностей. Доля травмированных крабов опилио на разных участках варьировала от 16 до 56%. В Охотском море в среднем у 35,2% от всех исследованных самцов опилио наблюдалось отсутствие одной, двух и более конечностей, а в Японском таких самцов было почти в два раза меньше (табл. 4). Коэффициенты экстенсивности и интенсивности поврежденности (по Иванову), характеризующие степень травмированности популяции в целом, были самыми высокими у самцов Охотского моря – 0,36 и 0,047 соответственно.

Таблица 4. Уровень травмированности краба-стригуна опилио в 1996–2001 гг.

Показатель	Охотское море		Японское море	
	самцы	самки	самцы	самки
Доля крабов, лишенных конечностей, %	35,2±0,41	29,9±1,33	18,1±0,67	17,8±1,2
Из них без клешненосных конечностей, %	15,1±0,56	12,5±1,78	14,1±1,47	14,3±2,59
Коэффициент экстенсивности	0,36	0,3	0,18	0,18
Коэффициент интенсивности	0,047	0,039	0,022	0,021

Известно, что крабы имеют способность регенерировать утраченные конечности. Однако, наблюдая за частотой встречаемости вновь отросших конечностей, было выявлено, что для опилио Сахалинского региона характерен низкий процент регенерации. Отросшие конечности разной стадии были обнаружены у 0,1% самцов и 0,6% самок. Такая слабая регенерация объясняется терминальной линькой у стригунов, после которой крабы не линяют и, следовательно, не растут.

Было замечено, что при аутономии у краба остается три первых сегмента переходов – соха (ляжка) и слитые вместе basis (основной членик) и ischium (седалищный членик).

По нашим наблюдениям, визуальные признаки процесса регенерации можно разделить на пять стадий. Первое время после аутономии место

слома имеет нежную покровную пленку белой окраски. Через некоторое время на этой пленке начинает проявляться темный пигмент, и скоро вся площадь слома покрывается черной пленкой, которая несет защитную функцию. Эта черная пленка предохраняет от проникновения патогенных микроорганизмов в нежные ткани краба. Пленка представляет собой образование довольно твердой консистенции и плотно сидит на месте слома. Под пигментной пленкой в результате регенеративных процессов на месте слома образуется «почка» бело-желтой окраски. По мере формирования «почки» пигментная корочка исчезает, и скоро становится виден только бело-желтоватый наплыв, из которого в дальнейшем в отдельных случаях формируется новая конечность.

Глава 5. Характеристика эпibiоза краба-стригуна опилию Сахалинского региона

Обрастания на карапаксе крабов снижают их товарные качества, в связи с чем требуются дополнительные затраты для удаления эпibiонтов. Внешние покровы крабов опилию часто служат субстратом для многощетинковых червей р. *Spirorbis*, усоногих раков р. *Balanus*, колоний мшанок кл. *Bryozoa*, гидроидов и водорослей. Эти организмы, после оседания на крабов, всю свою жизнь проводят на нем и составляют стабильную часть его эпibiоза. Кроме того, на опилию встречаются эпibiонты, которые только некоторое время своей жизни проводят на экзоскелетах крабов. К группе временных эпibiонтов относятся пиявки и их коконы.

У самцов и самок доминантным компонентом стабильного эпibiоза были многощетинковые черви р. *Spirorbis*. Эти организмы составляли 73% от общего числа сочленов стабильного эпibiоза самцов и 81,4% – самок. Роль субдоминантного компонента играли колонии мшанок, доля которых у самцов составляла 22%, а у самок – 18,3%. Усоногие рачки р. *Balanus* составляли около 5% численности сочленов стабильного эпibiоза самцов и 0,3% самок. Гидроиды и водоросли встречались в незначительном количестве.

Экстенсивные и интенсивные показатели седвазии стабильными эпibiонтами возрастали по мере старения панциря (рис. 3). Если на второй стадии линочного цикла экстенсивность седвазии самцов была 30%, то третьей поздней доля крабов со стабильными эпibiонтами возросла до 88,4% (рис. 2).

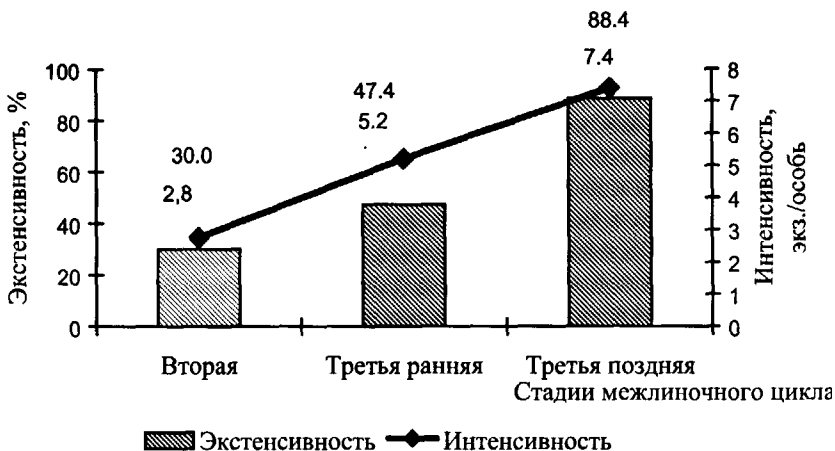


Рис. 2. Седвазия стабильными эпибионтами самцов крабов-стригунов опилио на разных стадиях личиночного цикла

Временные сочлены – пиявки сем. Piscicolinae – *Crangonobdella fabricii* и *Notostomum cyclostomum* и их коконы первыми появлялись на чистых после линьки покровах краба опилио из всех обрастателей. Взрослые пиявки, обычно поселяющиеся на нижней части конечностей, были обнаружены у $72,3 \pm 1,0\%$ самцов и $1,5 \pm 0,56\%$ самок опилио (табл. 5). Коконы этих пиявок отмечались у $82,1 \pm 0,86\%$ самцов и $0,42 \pm 0,30\%$ самок. Число коконов достигало на одном крабе 450 экз.

Таблица 5. Седвазия крабов-стригунов опилио Охотского моря пиявками и коконами *Crangonobdella fabricii* в сентябре–ноябре 2000–2001 гг.

	Параметры седвазии	Самцы (1992 экз.)	Самки (471 экз.)
Взрослые пиявки	Экстенсивность, %	$72,3 \pm 1,0$	$1,5 \pm 0,56$
	Интенсивность, экз./особь	$6,0 \pm 0,4$	1
	Амплитуда интенсивности, экз.	1–45	1
Кокон	Экстенсивность, %	$82,1 \pm 0,86$	$0,42 \pm 0,30$
	Интенсивность, экз./особь	$85 \pm 9,4$	1
	Амплитуда интенсивности, экз.	1–450	1

Разница в степени седвазии пиявками и коконами у самцов и самок объясняется более ранней терминальной линькой самок. В ловушечных уловах из-за выборочной способности ячеи ловушек попадают обычно половозрелые самки с довольно старым панцирем, который пиявки не используют для откладки коконов.

Более крупные пиявки *Notostomum cyclostomum* недолгое время находятся на крабах, откладывая темные коконы размером до 7 мм на карапаксе и реже на абдомене. Пиявки обнаруживались у 4,5 и 5,2% самцов крабов Японского и Охотского морей соответственно (табл. 6).

Таблица 6. Седвазия краба-стригуна опилио пиявками и коконами *Notostomum cyclostomum*

	Параметры седвазии	Японское море, 1999 г., октябрь–декабрь		Охотское море, 2000 г., сентябрь–ноябрь	
		самцы (3307 экз.)	самки (1020 экз.)	самцы (1792 экз.)	самки (471 экз.)
		Взрослые пиявки	Экстенсивность, %	4,5±0,36	0
Интенсивность, экз./особь	1,3±0,08		0	1,2±0,06	0
Амплитуда интенсивности, экз.	1–3		0	1–5	0
Коконь	Экстенсивность, %	65,1±0,83	11,5±1,0	37,7±1,14	0,6±0,36
	Интенсивность, экз./особь	17,8±0,8	7,6±0,9	14,1±0,4	5,2±0,3
	Амплитуда интенсивности, экз.	1–150	1–40	1–70	3–22

Обычно на самцах можно встретить одну пиявку, реже – три-пять. На самках опилио взрослые пиявки не встречались. Коконь этих пиявок значительно чаще встречались на крабах Японского моря.

Глава 6. Взаимоотношения крабов-стригунов с условно патогенными бактериями (бактериальный некроз)

Микроорганизмы, и в частности бактерии, играют важную роль в функционировании морских биоценозов. В значительном количестве бактерии находятся в донных отложениях, в воде, окружающей других гидробионтов, и на их теле, выступая уже в роли эпибионтов. Из всей микрофлоры особый

интерес представляют условно-патогенные бактерии, которые в определенных условиях способны вызывать физиологические нарушения у хозяина. Среди морских условно-патогенных бактерий для крабов представляют реальную опасность те из них, которые обладают хитинолитическими свойствами.

Как правило, повреждения целостности хитиновых покровов являются одной из причин возникновения болезни у краба, и в частности некроза панциря. Микрофлора воды Сахалинского региона представлена условно-патогенными бактериями родов *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Micrococcus* и другими. Открывающиеся при травмах панциря «ворота» инфекции способствуют проникновению возбудителей некроза хитиновых покровов.

Бактериологический анализ больных (с явными некротическими изъязвлениями на панцире) и здоровых (без видимых повреждений хитина панциря) крабов выявил микрофлору, которая, с учетом культурально-морфологических и биохимических свойств бактерий, была отнесена нами к десяти родам, приведенным в таблице 7.

Таблица 7. Частота встречаемости бактерий у крабов-стригунов опилио Охотского моря в 1996–1997 гг. (в процентах от общего числа выделенных культур)

Микроорганизмы	Всего выделено	От больных	От здоровых
p. <i>Pseudomonas</i>	46,9	36,6	10,2
p. <i>Moraxella</i>	9,4	6,2	3,1
p. <i>Acinetobacter</i>	5,6	3,6	2,1
p. <i>Flavobacterium</i>	6,2	4,1	2,1
p. <i>Aeromonas</i>	14,4	9,3	5,2
p. <i>Bacillus</i>	6,7	4,1	2,6
p. <i>Proteus</i>	6,2	6,2	0
p. <i>Micrococcus</i>	1	1	0
p. <i>Enterobacter</i>	1,5	1	0,5
p. <i>Plesiomonas</i>	2,1	2,1	0

В целом качественный состав микрофлоры больных крабов был более разнообразным, чем здоровых. Так, здоровые особи опилио не были инфицированы бактериями родов *Proteus*, *Micrococcus* и *Plesiomonas*, и число штаммов бактерий, обнаруженных у здоровых особей, было заметно ниже, чем у больных. При этом у больных особей доминировали условно-патогенные грамотрицательные неферментирующие бактерии р. *Pseudomonas*. Эти бактерии вызывали септический процесс. Они практически в монокультуре выделялись из пораженных тканей и внутренностей, в частности из мышеч-

ной ткани и гепатопанкреаса. Наибольшее видовое разнообразие наблюдалось в посевах кишечника и карапакса (табл. 8).

Таблица 8. Частота выделения бактерий от тканей крабов, пораженных некрозом (экз.)

Микроорганизмы	Карапакс	Мышца	Печень	Кишечник	Гонады	Итого	
						экз.	%
<i>p. Pseudomonas</i>	50	29	31	24	–	50	100
<i>p. Moraxella</i>	17	–	–	12	1	20	40
<i>p. Acinetobacter</i>	12	–	–	14	–	18	36
<i>p. Flavobacterium</i>	9	–	7	4	–	13	26
<i>p. Aeromonas</i>	11	3	8	5	–	18	36
<i>p. Bacillus</i>	6	–	–	–	–	6	12
<i>p. Proteus</i>	–	14	–	9	–	15	30
<i>p. Micrococcus</i>	13	–	–	17	–	19	38
<i>p. Enterobacter</i>	–	–	–	8	–	8	16
<i>p. Plesiomonas</i>	17	3	–	4	–	21	42

Из материала мышечной ткани было высеяно четыре вида бактерий и три – из материала печени. При посевах гонад роста бактерий обычно не отмечалось, и только от одного краба были получены штаммы микроорганизмов *p. Moraxella*. Карапаксы всех больных особей были инфицированы псевдомонадами. При повреждении панцирных покровов инфицированной оказалась и мышечная ткань в панцирных трубках, в то время как у особей с неповрежденными покровами она оставалась стерильной. От здоровых крабов микроорганизмы высевались только из карапакса и кишечника, и, как правило, в поликультуре.

Признаки некроза панциря хорошо заметны при внешнем осмотре. Болезнь проявлялась в виде пятен черного, иногда ржаво-черного цвета на теле животного. Размер поражений варьировал от точечного до нескольких квадратных сантиметров. Хитин в пораженных участках истончался, становился хрупким, и в тяжелых случаях заболевания наблюдались некротические изъязвления, ведущие к прободению покровов и обнажению тканей мышц. Пятна локализовались на карапаксе, абдомене, конечностях и даже глазах. Некроз зрительных органов приводил к полному разрушению одного, а иногда и обоих глаз. Чаще всего некротические изъязвления отмечались на ходильных конечностях и клешнях (рис. 3).

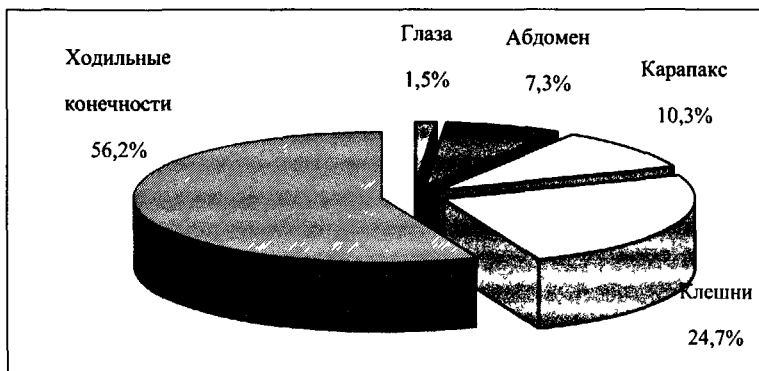


Рис. 3. Встречаемость некротических участков на теле краба-стригуна опилио (в процентах от всех выявленных случаев)

Патологоанатомические исследования крабов опилио, имеющих значительный некроз панциря, показали изменения тканей и органов. В ряде случаев, когда разлагался хитин экзоскелета, мышечная ткань обнажалась и была окрашена в серый, иногда черный цвет. У 89,5% пораженных стригунов наблюдалось изменение цвета гепатопанкреаса от оливкового (в норме) до коричневого, бурого и даже черного. Черный цвет наблюдался у 46,7% пораженных самок и у 19,7% самцов. На жабрах было замечено почернение эпителия лепестков, что является одним из симптомов общего поражения организма крабов бактериальным некрозом (Young et al., 1975; Vogan, 2001).

Было выявлено, что болезнь развивалась у крабов по мере старения панциря, что проиллюстрировано на гистограмме (рис. 4).

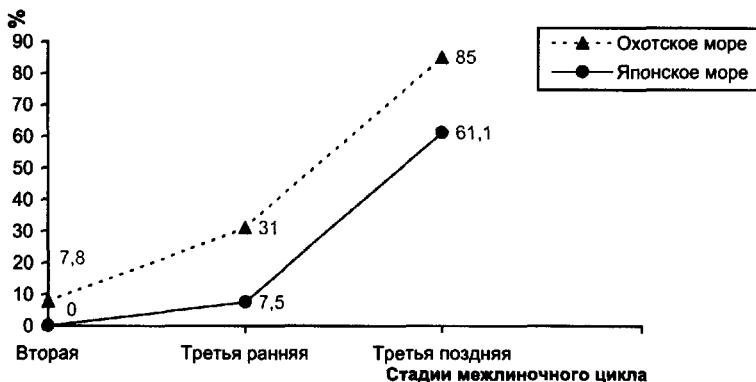


Рис. 4. Пораженность некрозом панциря самцов крабов-стригунов опилио разных стадий линочного цикла в 1996–2001 гг.

В Охотском море крабы опилио, больные некрозом панциря, встречались значительно чаще, чем в Японском. При этом самки были поражены этим заболеванием сильнее, чем самцы (табл. 9).

Таблица 9. Пораженность крабов-стригунов опилио некрозом панциря в 1996–2001 гг.

Район исследований	Доля больных, %		t _{st} по Стьюденту
	самцы	самки	
Охотское море	29,1±0,42	59,0±1,45	19,81*
Японское море	10,8±0,54	45,4±1,56	20,96*

*Различия достоверны по 0,1%-ному уровню значимости ($p < 0,001$)

Следует отметить, что некоторыми авторами средний уровень зараженности крабов некрозом панциря используется как индикатор популяций (Young, Pearse, 1975; Sawyer et al., 1983).

Глава 7. Взаимоотношения крабов Сахалинского региона с микроскопическими грибами (хитиноподобный микоз)

Паразитирование на крабах микроскопических грибов *Trichomarix invadens* (кл. Ascomycetes) вызывает хитиноподобную грибковую болезнь, которая была отмечена у опилио в Охотском море. Внешние признаки болезни начинались с проявления небольших дискретных черных точек на покровах животного, которые, расширяясь и соединяясь, в виде черной массы покрывали всю поверхность карапакса или конечностей. По нашим наблюдениям локализация поражений была различной: встречались животные с нарастаниями на карапаксе при совершенно чистых конечностях и абдомене, либо поражены были только одна или несколько конечностей. Нередко отмечались поражения глаз. Пораженные панцирные покровы с внутренней стороны становились тоньше, нарушалась их структура. Экстенсивность заражения микозом самцов опилио варьировала по районам от 0,3 до 1,0%, а доля пораженных самок на юге Охотского моря в 2000 году достигала 8,5%. Средняя экстенсивность заражения самцов составила 0,6%, а самок – 3,7%.

Поскольку больные крабы выпускаются назад в море, а это ведет к накоплению инфекционного начала и изменению эпизоотического фона, то добывающим предприятиям рекомендовано утилизировать больных крабов на судне.

ВЫВОДЫ

Таким образом, по результатам наших исследований можно сделать следующие выводы.

1. В Сахалинском регионе размеры взрослых особей краба связаны с местом обитания. Средняя ширина карапакса самцов опилию Японского моря составила $11,8 \pm 0,03$ см при амплитуде 7,2–17 см. В Охотском море самцы были заметно меньше – $10,8 \pm 0,01$ см, (5,6–15,4 см).

2. У краба-стригуна опилию на различных стадиях его развития были выявлены некоторые морфологические изменения, затрагивающие строение и структуру экзоскелета. Наиболее значимыми для популяции Охотского моря были поражения, связанные с аутономией и заболеваемостью бактериальной и микозной природы. В Японском море эпизоотическое состояние популяции опилию было более благополучное: микозное поражение панциря не обнаружено, доля самцов с бактериальными поражениями на панцире и уровень травмированности были значительно ниже, чем в Охотском.

3. Наблюдались различия в доле потери конечностей между самцами и самками в биоценозе Японского и Охотского морей. Регенерация конечностей у опилию встречается редко, и при этом у самок в пять-шесть раз чаще, чем у самцов.

4. Эпibiоз крабов-стригунов опилию состоит из стабильных и временных сочленов. Доминантным компонентом стабильного эпibiоза являются многощетинковые черви р. *Spirorbis*. Субдоминантным компонентом в эпibiозе опилию являлись колонии мшанок. Экстенсивность седвазии стабильными эпibiонтами возрастает по мере старения панциря.

К временным компонентам относятся пиявки – *Notostomum cyclostomum* и *Crangonobdella fabricii* и их коконы. Максимальный уровень седвазии пиявками и коконами в основном приходится на третью раннюю стадию личиночного цикла самцов краба. На самках эти организмы встречаются значительно реже, чем на самцах.

5. Широкий спектр микроорганизмов способен вызывать у краба некроз панциря. В Сахалинском регионе основным этиологическим агентом заболевания являются грамотрицательные неферментирующие бактерии р. *Pseudomonas*. При некрозе панциря были обнаружены патологические изменения органов и тканей: некроз жаберных лепестков, изменение структуры и цвета гепатопанкреаса и мышечной ткани.

Клиническое проявление болезни усугубляется по мере старения панциря: доля больных крабов, находящихся на третьей поздней стадии личиночного цикла, была максимальной.

Пораженных некрозом панциря крабов опилио в Японском море зарегистрировано почти в три раза меньше, чем в Охотском. При этом заболевание чаще встречалась у самок.

6. У крабов-стригунов из Охотского моря сахалинского побережья описан хитинолитический микоз, вызванный микроскопическим грибом *Trichomaris invadens*. Средняя экстенсивность поражения этим заболеванием самцов опилио составила 0,6%, а самок – 3,7%.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Стексова, В. В. Травматизм и процессы регенерации конечностей краба-стригуна опилио *Chionoecetes opilio* / В. В. Стексова // Проблемы охраны и рац. использ. биоресурсов Камчатки : Тез. докл. Второй науч.-практ. конф. – П-Камчатский, 2000. – С. 95–96.

2. Стексова, В. В. Микозное поражение краба-стригуна опилио *Chionoecetes opilio* / В. В. Стексова // Проблемы охраны и рац. использ. биоресурсов Камчатки : Тез. докл. Второй науч.-практ. конф. – П-Камчатский, 2000. – С. 97–98.

3. Stexova, V. V. Pathologies of snow crab, *Chionoecetes opilio* (Fabricius, 1788) in the Northern Pacific Ocean along the coast of Sakhalin Island (Russia) / V. V. Stexova, G. P. Vyalova and Z. K. Shkhurina // Diseases of Fish and Shellfish : Abstract Book. 10th International Conference of the EAFF. Trinity College Dublin (9th–14th September). – Ireland, 2001. – P-003.

4. Стексова, В. В. Эпизоотические предпосылки марикультуры крабов Сахалина / В. В. Стексова // Прибреж. рыболовство – XXI век : Тез. докл. междунар. науч.-практ. конф. (19–21 сент. 2001 г.). – Ю-Сах., 2001. – С. 110–111.

5. Стексова, В. В. Структура и формирование эпибиоза краба-стригуна опилио восточного побережья Сахалина / В. В. Стексова // Рыбохоз. исслед. в Сах.-Курил. регионе и сопред. акваториях : Сб. науч. тр. СахНИРО. – Ю-Сах. : СахНИРО, 2003. – Т. 5. – (В печати).

6. Стексова, В. В. Микрофлора крабов-стригунов *Chionoecetes opilio* (Decapoda, Majidae) Сахалина при некрозе панциря / В. В. Стексова // Памятные науч. чтения к 85-летию проф. В. А. Мусселиус-Богоявленской : Материалы докл. (1–2 окт. 2003 г.). – М. : ВНИИПРХ, 2003. – (В печати).

7. Stexova, V. V. Diseases and pathologies of Sakhalin commercial crabs / V. V. Stexova // Sci. Rep. Hokkaido Fish. Exp. Stn. – 2003. – (In print).

Подписано в печать 17.11.2003. Объем 1,25 псч. л. Тираж 100 экз. Заказ № 34

СахНИРО, 693023, г. Южно-Сахалинск, ул. Комсомольская, 196

19224

2003-A
19224