

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ



Дальневосточный государственный технический
рыбохозяйственный университет

**КОМПЛЕКСНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
В РЫБОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ОТРАСЛИ**

**Материалы VI Международной научно-технической
конференции студентов, аспирантов и молодых ученых**

(Владивосток, 27 ноября 2020 года)

Электронное издание

**Владивосток
Дальрыбвтуз
2021**

УДК 639.2
ББК 65.35
К63

Организационный комитет конференции:

Председатель: Щека Олег Леонидович, доктор физ.-мат. наук, профессор, ректор ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз».

Зам. председателя: Полешук Денис Владимирович, канд. техн. наук, доцент, председатель Совета молодых ученых ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз».

Секретарь: Пономаренко Светлана Юрьевна, ассистент кафедры «Технология продуктов питания»

Адрес оргкомитета конференции:

690087, г. Владивосток
ул. Луговая, 52б, ауд. 412б
Дальневосточный государственный технический
рыбохозяйственный университет,
Тел./факс: (423)2-44-11-76
e-mail: dalrybvtuz-smu@mail.ru

К63 **Комплексные исследования в рыбохозяйственной отрасли** : материалы VI Междунар. науч.-техн. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых [Электронный ресурс]. – Электрон. дан. (19,5 Mb). – Владивосток : Дальрыбвтуз, 2021. – 396 с. – Систем. требования : PC не ниже класса Pentium I ; 128 Mb RAM ; Windows 98/XP/7/8/10 ; Adobe Reader V8.0 и выше. – Загл. с экрана.

ISBN 978-5-88871-747-9

Представлены материалы, посвященные рациональному использованию водных биологических ресурсов, рыболовству, экологическим проблемам, аквакультуре, технике, технологии и управлению качеством продуктов из гидробионтов, а также гуманитарным и социально-экономическим аспектам развития рыбохозяйственной отрасли.

Приводятся результаты научных исследований студентов, аспирантов и молодых ученых.

УДК 639.2
ББК 65.35

ISBN 978-5-88871-747-9

© Дальневосточный государственный
технический рыбохозяйственный
университет, 2021

Полина Романовна Дымшакова

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, студент, Россия, Владивосток, e-mail: polinadym88@gmail.com

**Болезни устрицы гигантской (*Crassostrea gigas*)
в период ее личиночного развития**

Аннотация. Выявлено предположительное заболевание у личинок тихоокеанской устрицы, выращиваемых в заводских условиях. По литературным данным рассмотрены три основных рода заболеваний у личинок устрицы (герпесовируса, бактериальное и грибковое заболевания).

Ключевые слова: устрица, болезни устрицы, культивирование, условия заболевания, выживаемость, смертность.

Polina R. Dymshakova

Far Eastern State Technical Fisheries University, student, Russia, Vladivostok, e-mail: polinadym88@gmail.com

Diseases of the oyster (*Crassostrea gigas*) during her larval development

Abstract. In this article, a presumptive disease was revealed in the larvae of the Pacific oyster grown in the factory. According to the literature, three main types of diseases in oyster larvae (herpes virus, bacterial and fungal diseases) are considered.

Keywords: oyster, oyster diseases, cultivation, conditions, survival, mortality.

Тихоокеанская устрица (*Crassostrea gigas*) относится к классу двустворчатых моллюсков, является одним из самых частых культивируемых объектов в марикультуре, в связи с их потенциалом к быстрому росту и широкому диапазону устойчивости к условиям окружающей среды.

Существуют множество болезней уже половозрелых особей, которые изучены, и во многих источниках представлены условия для успешного культивирования моллюсков, а также варианты лечения уже зараженных производителей. Но одной из самых важных частей всего процесса выращивания является личиночная стадия, так как в этот период личинки очень требовательны к условиям содержания. Как правило, любое отклонение от нормы может привести к заражению личинок и как следствие – высокому проценту смертности. В этот период важна качественная очистка и фильтрация воды ультрафиолетом, во избежание попадания в воду бактериальных клеток.

Целью данной работы является изучение некоторых болезней тихоокеанской устрицы на этапе ее личиночного развития.

Материалы и методики исследования

В основу работы положены материалы, полученные в результате инфицирования личинок тихоокеанской устрицы на предприятии «Дальстам-Марин», расположенном на о. Русский в бухте Воевода. Наблюдение проводилось в период с 27 июля по 1 августа, с начала нереста до полного избавления бассейнов от заражения.

Отбор производителей производился водолазным способом в бухте Воевода. Температура воды у дна составляла 16 °С. Температура воды в бассейнах составляла 21 °С. Для

стимуляции нереста использовался метод резкой смены температур. Производителей помещали в холодильные камеры на сутки. После перемещали их в заранее подготовленные ёмкости объемом 500 л. Температура воды, при которой происходил нерест и дальнейшее выращивание личинок, составляла от 21,5 до 23 °С.

Процесс оплодотворения, развития эмбрионов и личинок контролировался под микроскопом. В каждой ёмкости отбиралась проба 200 мл, из которых брали не менее 3 проб по 1 мл. Подсчитывалось количество оплодотворенных и неоплодотворенных яйцеклеток, полиспермии не наблюдалось.

Через день после нереста личинки перешли на личиночную стадию D-формы. В это время личинки переходят на экзогенное питание. В качестве корма использовалась микроводоросль *Isochrysis galbana*, так как ее клетки имеют небольшой размер и устрицы способны ею питаться.

На 3-й день развития при увеличении у личинки можно было заметить выпуклый замковый край. Развитие личинок – правильное.

После нереста устрицы при развитии личинок в двух ёмкостях из четырех была обнаружена «розовая» болезнь. Определение предположительной болезни происходило визуально с помощью литературных данных. Личинок исследовали в отраженном и проходящем свете на увеличениях от 10 до 100 х с применением биологического микроскопа Микмед-6.

Результаты и их обсуждение

Во время развития личинок в ёмкостях № 2 и № 3 на дне появились розоватые пятна непонятного происхождения. При рассмотрении пробы, взятой со дна, были обнаружены личинки розово-фиолетового цвета (рис. 1). Предположительно, это бактериальное заболевание «розовая» болезнь, возбудителем которой является *Pseudomonas*.



Рисунок 1 – Зараженные личинки тихоокеанской устрицы (фото автора)

Согласно литературным данным, изученным в процессе диагностики, в период исследования были выявлены возбудители заболевания. Были собраны образцы крови восьми умирающих взрослых особей вместе с розовыми личинками D-формы и биопленкой. Эти штаммы были сгруппированы в пять кластеров, где доминировали роды *Vibrio* и *Pseudomonas*. Микробиологический анализ показал, что розовая биопленка, наблюдаемая в ёмкостях с умирающими взрослыми особями и розовыми личинками, была связана с присутствием *Pseudomonas*. Единственный штамм CNLS1P был выделен из розовой биопленки и идентифицирован как *Pseudomonas* sp. Этот штамм также был обнаружен у инфицированных личинках D-формы. При поздней диагностике заболевания смертность может

достичь 100 %. Фактором, влияющим на болезнь или восприимчивость устриц, является температура. Так, бактерии рода *Pseudomonas* могут развиваться как при $t = 4-6\text{ }^{\circ}\text{C}$, так и при температурах выше $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ [1].

В наших ёмкостях с выращиваемыми личинками температура воды поддерживалась на уровне $22\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Сравнение литературных данных с полученными на производстве представлено в таблице.

Сравнение полученных результатов исследования на предприятии с материалами, представленными в литературе

| Показатель | Качественная характеристика или величина | |
|-----------------|---|---|
| | По литературным данным | По данным «Дальстам-Марин» |
| Период болезни | Март- ай, зарегистрированы случаи в течение всего лета | 31 июля 2020 г. |
| Размеры личинок | Личинки, достигшие размера 150 мкм | Личинки, достигшие размера 65,7 мкм |
| Возраст личинок | Примерно в 10-дневном возрасте | Личинки достигли 5-дневного возраста |
| Температура | При культивировании при $t = 25-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ | При культивировании при $t = 20,5-21,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ |

Опираясь на свои наблюдения и на информацию, полученную из литературных источников [1], можно выделить характерные признаки данного заболевания:

- личинки устрицы скапливаются на дне ёмкости;
- проявляется ухудшение состояния паруса;
- проявляется потеря реснитчатых веллярных эпителиоцитов, которые могут появляться в виде пузырьков на периферии велюма (паруса) по мере их отслоения, образуются характерные «пузыри», связанные с болезнью.

На рис. 2 показаны личинки тихоокеанской устрицы на стадии велигер не зараженные, с нормальным состоянием велюма (А) и зараженным – с аномально развитым велюмом (Б).

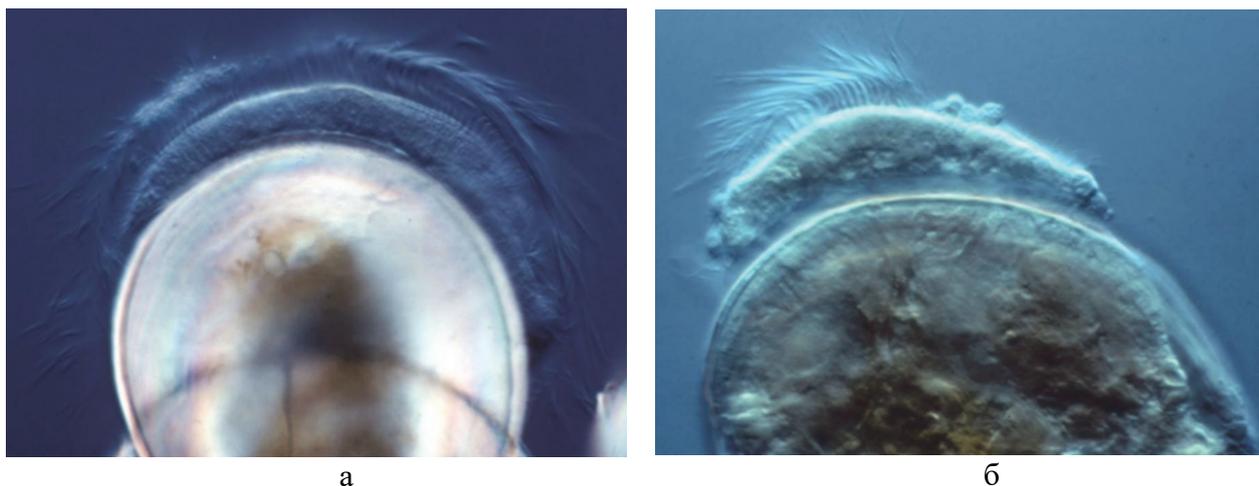


Рисунок 2 – Личинки тихоокеанской устрицы на стадии велигер:
а – здоровая личинка; б – зараженная личинка [3]

Из литературного источника [1] известно, что для постановки точного диагноза, при большом увеличении микроскопа, следует обратить внимание на характерные интрацитоплазматические тела в тканях (рис. 3).

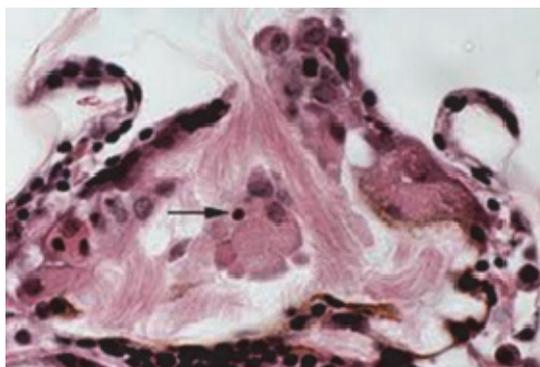


Рисунок 3 – Тела включения в эпителии вельюма личинки тихоокеанской устрицы [1]

Тела включения наиболее часто расположены в реснитчатом велярном эпителии, но иногда могут наблюдаться в велярном поддерживающем эпителии, пищеводном и оральном эпителии. В велярном реснитчатом эпителии тела включения часто встречаются в отслоившихся клетках, которые могут быть округлены и отделены в полости вельюма по мере дегенерации его архитектуры. Тела включения сферические, плотные и базофильные на ранних стадиях инфекции, но становятся нерегулярными и менее базофильными по мере образования вирионов.

Методы лечения в литературных источниках не найдены. Для предотвращения заражения здоровых личинок пересаживали в чистую емкость с чистой водой и применяли «Антибак-500». Так как обнаружение болезни произошло на ранней стадии, выживаемость сохранилась с высокими показателями. Смертность среди зараженных личинок составляла 100 %.

Интересно отметить, что у личинок тихоокеанской устрицы отмечены и другие заболевания. Например, **Герпесвирус OsHV-1**. Данное заболевание вызывается вирусом OsHV-1, который поражает все тело личинки. Инфицирование моллюсков OsHV-1 происходит на очень ранних стадиях их развития. Зараженная личинка показана на рис. 4.

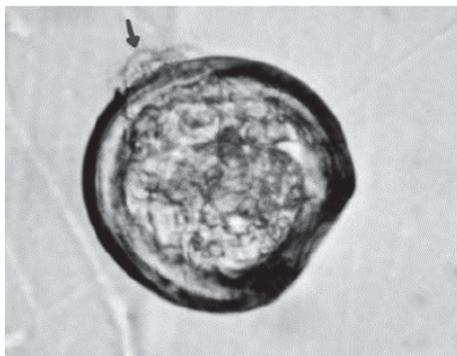


Рисунок 4 – Личинка тихоокеанской устрицы на стадии велигер, пораженная вирусом OsHV-1 [5]

Заражение начинается при контакте вируса с будущими хозяевами. Вирусные частицы могут попадать в организм хозяина через пищеварительный тракт во время приема пищи. Затем вирус направляется к пищеварительной железе и гемолимфатической системе. Зараженные клетки транскрибируют вирусные гены, что приводит к репликации и высвобождению вируса в цитоплазму в течение 2–3 дней. По этой причине гибель поражённых личинок носит прогрессирующий характер.

Ранняя диагностика при данном заболевании невозможна, так как вирус, находясь в цитоплазме, во 2-й день не вызывает явных характерных признаков. На 3–4-й день после нереста, личинки растут медленно или вообще перестают расти, на 7-й день гибель зара-

жённых герпесвирусами особей может превысить 60 %, а на 11-й день может достигнуть 100 %. Попадая в организм хозяина, вирусы поражают клетки соединительной ткани мантии, велюма, жабр, интерстициальные и эпителиальные клетки, нервную систему, миоциты, гемоциты; на последнем этапе развития болезни тело личинок может быть полностью поражено вирусом [5].

В устричных питомниках вспышки герпесвирусной инфекции приводят к неудачам в получении личинок от разных маточных стад. Установлена тесная связь между температурой воды и вспышками герпесвирусной инфекции. Так, в Европе это заболевание обычно начинается при температуре морской воды около +16 °С, а максимальная смертность моллюсков регистрируется при +24±3 °С. Стрессовые условия, такие, как ухудшение качества воды, сокращение корма или внезапное повышение температуры воды (+0,5 °С за 3–4 дня), а также плохие технические условия выращивания моллюсков (например, высокие плотности посадки моллюсков, плохая кормовая база, загрязнение), служат толчком к развитию болезни. Микровариант OsHV-1 может длительное время существовать в популяции моллюсков в скрытой форме, а потом внезапно, обычно в теплое время года, под действием стрессовых факторов, дать вспышку. При этом взрослые устрицы или другие восприимчивые виды моллюсков служат резервуарами инфекции [6, 7, 8].

Также в настоящее время на практике культивирования встречается малоизученное заболевание, вызванное **грибком *Hyalochlorella***. При исследовании личинок у них в желудочно-кишечном тракте наблюдали наличие сферического тела диаметром от 6 до 7 мкм (рис. 5).

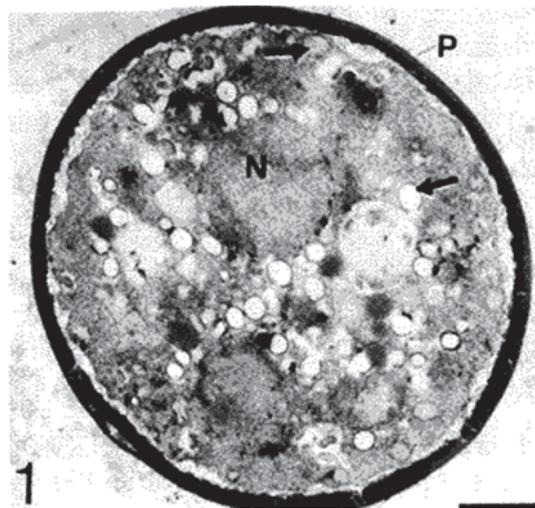


Рисунок 5 – Сферическое тело *Hyalochlorella marina*, обнаруженное в зараженной личинке устрицы [5]

Оно состоит из внешней стенки, в которой можно различить две области с разной плотностью, причем внешняя область менее плотна, чем внутренняя. Сферы имеют цитоплазму, которая отличается плотной грануляцией и содержит множество вакуолей. Сферы, обнаруженные в настоящем исследовании, соответствуют грибку, который имеет морфологическое сходство с *Hyalochlorella* sp. Присутствие этого грибка в желудочно-кишечном тракте личинок может повлиять на нормальные функции пищеварительной железы. В результате чего личинка перестает питаться и умирает. Смертность при данном заболевании составляет 80 % [3]. Методы лечения и профилактики пока не найдены.

Важно отметить, что данное грибковое заболевание способствует разрушению плазматической мембраны клетки, вследствие чего они подвержены легкому проникновению вирусов и бактерий внутрь, что делает личинку беззащитной перед окружающей средой.

Таким образом, рассмотренные некоторые заболевания бактериальной, вирусной и грибковой этиологии свидетельствуют о том, что наиболее вероятной причиной их появления является некачественная подготовка воды, включающая в себя мониторинг состояния заборной воды и её фильтрацию, а также контроль за условиями содержания эмбрионов и личинок устрицы.

Изучение болезней устрицы на ранних этапах её развития и исследование возможных способов лечения являются гарантом получения жизнестойкой молодежи.

Библиографический список

1. Latin american journal of aquatic research. Lat. Am. J. Aquat. Res. – 2019. – Vol. 47, № 3. Valparaíso jul.

2. Гаевская А.В., Лебедевская М.В. Паразиты и болезни гигантской устрицы (*Crassostrea gigas*) в условиях культивирования. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2010. – 218 с.

3. Elston R.A., M.T. Wilkinson. Pathology, management and diagnosis of oyster velar virus disease (OVVD) // Aquaculture. – 1985. – № 48. – P. 189–210.

4. Ким, Г.Н. Марикультура: учеб. пособие / Г.Н. Ким, С.Е. Лескова, И.В. Матрсова. – М.: МОРКНИГА, 2014. – 273 с.

5. Schikorski D, Faury N, Pepin JF, Saulnier D, Tourbiez D, Renault T. Экспериментальная инфекция герпесвирусом 1 остридов у тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas*. – 2011. – 155. – P. 28–34.

6. Pacific Oyster, *Crassostrea gigas* mortality associated with the Herpesvirus: etiology and environmental emerging factors / N. Hassou, N. Abouchoaib, A. Orbi, M.M. Ennaji // Emerging and Reemerging Viral Pathogens. – Academic Press, 2020. – P. 933–969.

7. Viruses infecting marine molluscs / I. Arzul, S. Corbeil, B. Morga, T. Renault // Journal of invertebrate pathology. – 2017. – Vol. 147. – P. 118–135.

8. Мальцев В.Н. Предварительные данные о вспышке герпесвирусной инфекции устриц в Черном море // Промысловые беспозвоночные: материалы IX Всерос. науч. конф. – Керчь, 2020. – С. 127–134.