



с 1881 г.

**ФГБОУ ВО «Керченский государственный морской технологический университет» (кафедра водных биоресурсов и марикультуры)
Азово-Черноморский филиал ФГБНУ ВНИРО (АзНИИРХ)**

ПРОМЫСЛОВЫЕ БЕСПОЗВОНОЧНЫЕ

Материалы IX Всероссийской научной конференции

30 сентября – 2 октября 2020 г.

Симферополь
ИТ «АРИАЛ»
2020

УДК 504.7
ББК 26.2
П 81

П 81 **Промысловые беспозвоночные** : материалы IX Всероссийской научной конференции (г. Керчь, 30 сентября – 2 октября 2020 г.). – Симферополь : ИТ «АРИАЛ», 2020. – 144 с.
ISBN 978-5-907376-18-2

УДК 504.7
ББК 26.2

Научное издание

ПРОМЫСЛОВЫЕ БЕСПОЗВОНОЧНЫЕ

материалы IX Всероссийской научной конференции

г. Керчь, 30 сентября – 2 октября 2020 г.

в авторской редакции

Формат 60х84/16. Усл. печ. л. 8,49. Тираж 70 экз. Заказ № 09А/18.

ИЗДАТЕЛЬСТВО ТИПОГРАФИЯ «АРИАЛ»

295015, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Севастопольская, 31-а/2,
тел.: +7 978 71 72 901, e-mail: it.arial@yandex.ru, www.arial.3652.ru

Отпечатано с оригинал-макета в типографии «ИТ «АРИАЛ»

295015, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Севастопольская, 31-а/2,
тел.: +7 978 71 72 901, e-mail: it.arial@yandex.ru, www.arial.3652.ru

ISBN 978-5-907376-18-2

© Авторы статей, 2020
© ИТ «АРИАЛ», макет, оформление, 2020

АКВАКУЛЬТУРА

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О ВСПЫШКЕ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ УСТРИЦ В ЧЕРНОМ МОРЕ

PRELIMINARY DATA ON AN OUTBREAK OF HERPESVIRAL INFECTION OF OYSTERS IN THE BLACK SEA

Мальцев Вячеслав Николаевич

Отдел «Керченский» Азово-Черноморского филиала ФГБНУ «ВНИРО»,
г. Керчь, РФ
E-mail: maltsev66@mail.ru

Приведена краткая характеристика герпесвирусного заболевания устриц, вызываемого микровариантом OsHV-1. Изложены результаты обследований двух мидийно-устричных хозяйств (ферм), расположенных на Кавказском побережье Черного моря (Россия), где в мае-июне 2018 г. произошла внезапная массовая гибель выращиваемых тихоокеанских устриц (*Crassostrea gigas*). Собранные эпизоотические, клинические, патологоанатомические и гистологические данные свидетельствуют о том, что наиболее вероятной причиной этой гибели была вспышка герпесвирусного заболевания, представляющего значительную угрозу для устричной индустрии в Черном море. Наш предварительный диагноз нуждается в подтверждении молекулярно-генетическими методами.

Ключевые слова: герпесвирусная инфекция, OsHV-1, тихоокеанская устрица, Черное море.

The paper provides a brief description of the ostreid herpesviral disease caused by OsHV-1 microvariant. The results of surveys of two mussel and oyster farms located on the Caucasus coast of the Black sea (Russia) where a sudden mass death of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) occurred in May-June 2018 are described. The collected epizootic, clinical, pathoanatomical and histological data indicate that the most likely cause of the death was an outbreak of herpesviral disease, which is a significant threat to the oyster industry in the Black sea. Our preliminary diagnosis needs to be confirmed by molecular genetic methods.

Key words: herpesviral infection, OsHV-1, Pacific oyster, Black sea

Введение. Герпесвирусное заболевание (инфекция) устриц – контагиозная болезнь двустворчатых моллюсков, поражающая преимущественно устриц рода *Crassostrea* (чаще, тихоокеанскую - *Crassostrea gigas* и португальскую устриц - *C. angulate*). Патогенный вирус регистрировался также у других двустворчатых моллюсков (*Bivalvia*), в том числе у обитающих в Черном море европейской устрицы (*Ostrea edulis*) и

средиземноморской мидии (*Mytilus galloprovincialis*), являющихся перспективными объектами марикультуры в этом регионе.

Возбудителем болезни является один из генотипов (микровариант) герпесвируса устриц 1 (международное обозначение OsHV-1, = *Ostreid herpesvirus 1*). Заболевание протекает в острой форме: моллюски внезапно, в течение нескольких дней, массово гибнут, что является очевидным клиническим признаком этой болезни. Наибольшая смертность отмечается у личинок, спата (ранней молодежи) и молодежи (предтоварных) моллюсков возрастом до 1 года, которые считаются наиболее уязвимыми. Кратковременная смертность молодежи достигает 70-80 %, а кумулятивная – до 100 %. Смертность личинок достигает 100 %. 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 [17, 14].

В связи с быстрым течением болезни явные патологоанатомические признаки у моллюсков не успевают развиваться. У погибающих инфицированных устриц может обнаруживаться побледнение (осветление) пищеварительной железы; признаки истощения, обычно, не отмечаются. В организме устриц герпесвирус поражает преимущественно клетки соединительной ткани мантии, жабр, ротовых лопастей, пищеварительной железы, вызывая характерные изменения их клеточных ядер.

Микровариант OsHV-1 впервые обнаружен во Франции в конце 1990-х годов; в последующем он был выявлен в Нидерландах, Ирландии, Великобритании, Португалии, Испании, Италии, Австралии, Новой Зеландии, США, Корее [12]. В 2014-2016 гг. этот вирус найден в Скандинавских странах (в Швеции и Норвегии). Болезнь распространена в Средиземном море [9]. В 2008-2010 гг. в зараженных герпесвирусной инфекцией устричных хозяйствах Франции, Испании, Англии смертность молодежи тихоокеанской устрицы составляла от 40 до 95 % их численности, что привело к спаду производства устричной продукции на 30-50 %. Во Франции это вызвало остановку в работе 80-100 устричных ферм, в Великобритании в 2010 г. болезнь уничтожила около 8 млн. выращиваемых

устриц. Неблагополучная ситуация в Европе по этому заболеванию сохраняется до настоящего времени [15].

По данным ФАО [11], в Черном море лишь Россия занимается промышленным (индустриальным) выращиванием тихоокеанских устриц. Согласно сведениям Росрыболовства, морскими хозяйствами Крыма и Кавказа в 2017 г. выращено 442 тонны устриц, в 2018 г. – 270 тонн, в 2019 г. – более 2,4 тыс. тонн. Высокие темпы роста отечественной устричной индустрии в Черном море сопряжены с рисками заноса в этот регион опасных патогенов, вспышек здесь заразных заболеваний моллюсков [4]. Ситуация осложняется тем обстоятельством, что устричные питомники на юге России сейчас отсутствуют, поэтому посадочный материал (спат или подращённую молодь) массово завозят в Черное море либо из инфицированной герпесвирусом Европы (Франция, Испания, Ирландия, Англия и др.), либо из российского Дальнего Востока (Сахалин, залив Посьета), имеющего неопределенный эпизоотический статус по данному заболеванию. При этом ветеринарная нормативная документация РФ не предусматривает специального государственного контроля этого заболевания. Сведения о результатах исследований тихоокеанских устриц в Черном море в отношении герпесвирусной инфекции отсутствуют не только в ветеринарной отчетности [см. сайт Россельхонадзора], но и в отечественной научной литературе [1, 3, 7].

Материалы и методы. Основанием для проведения срочных эпизоотических исследований послужило обращение руководителей 6-ти мидийно-устричных хозяйств (ферм) Кавказского побережья Черного моря (от г. Анапы до г. Сочи, Краснодарский край) о внезапной массовой гибели устриц в этих хозяйствах. Третьего и четвертого июля 2018 г. выполнен выезд на береговые базы двух морских мидийно-устричных ферм, расположенных в районе г. Анапы и г. Новороссийска (Абрауский полуостров). В каждой ферме проанализирована технология выращивания устриц в подвесных садках. Проведена оценка состояния некоторых параметров морской акватории (температуры воды, ее прозрачность, наличие-отсутствие признаков антропогенного загрязнения и др.). В каждом хозяйстве выполнен массовый клинический осмотр около 500 экз. устриц разных возрастных групп (от 0,5 года до 3-х лет); произведен прямой учет соотношения живых, мертвых и умирающих моллюсков количественным (экз.) и объемным методом (доля, в %). Углубленные лабораторные морфофизиологические, патологоанатомические, паразитологические, гистологические и микроскопические исследования проб устриц (из каждого хозяйства – по 40-50 экз.), а также аналитические работы выполнены в период с 5 по 12 июля 2018 г. на базе Сектора ихтипатологии Отдела «Керченский» филиала Азово-Черноморского филиала ФГБНУ «ВНИРО» (ранее «ЮгНИРО») (г. Керчь). Органы и ткани моллюсков исследовали в отраженном и проходящем свете на увеличениях от 10 до 1000 х с применением биологического микроскопа Микмед-6,

вар. 7, укомплектованного цифровой камерой TourCam (5 Мегапикселей), окуляр-микрометром, программой обработки микроскопических изображений Tour View 3.7, а также с помощью бинокля ST-6BT. Применялись методы неполных паразитологических вскрытий моллюсков, рекомендованные в нормативных и научных руководствах [5, 8]. Отмечали аномалии в строении створок, ротовых лопастей, жабр, мантии, гонад, пищеварительной железы, которые характерны для заразных болезней устриц. Обнаруженных паразитов исследовали морфологически прижизненно, а также документировали их строение с помощью цифрового микрофотографирования. Мягкие ткани 3-х устриц с длиной (высотой) раковины 30-35 мм зафиксировали в 10 %-ном формалине. Гистологическую обработку этих тканей, а именно обезвоживание, пропитывание и заливку в парафин, изготовление тканевых срезов толщиной 2-3 мкм, их окрашивание гематоксилин-эозином и монтирование гистологических препаратов выполняли по стандартной методике [6]. Результаты исследований анализировали с точки зрения международных нормативов по диагностике герпесвирусной инфекции, вызываемой OsHV-1 [13].

Результаты. В ходе исследований установлено, что молодь устриц (диплоидов и триплоидов) многие годы завозили мидийно-устричные хозяйства Кавказа из различных стран Европы, преимущественно их Франции (в последние годы - из питомника «France Naissain»). В предшествующие годы некоторые партии молоди, завезенной в Черное море, погибали, однако специальные исследования причин их гибели не выполнялись. Перед посадкой в море молодь устриц не карантинировали. Технология выращивания устриц в подвесных садках на коллекторах, в целом, не имела существенных недостатков, противоречащих научным рекомендациям [2, 7], которые могли бы привести к массовой гибели устриц. Аварийных ситуаций на плантациях не происходило. Периодичность осмотра, очистки садков с устрицами и их калибровки, применяемые в хозяйствах, соответствовали научным рекомендациям. Однако плотность посадки устриц в садки была несколько выше рекомендованных параметров; это могло создавать стрессовые условия для устриц. Установлено, что массовая гибель устриц в обоих хозяйствах началась в мае 2018 года с достижением температуры воды + 15-16° С, и усилилась в июне-июле 2018 года при температуре воды + 22-23° С. В мае-июне 2018 года в районе Абрауского полуострова в Черном море отмечалась аномально высокая температура воды, превышающая средние многолетние показатели на +1-2° С (в мае, в среднем, + 18,1 ° С, в июне - +22,7° С). Погибали преимущественно молодые неполовозрелые особи тихоокеанских устриц; более крупные товарные устрицы были устойчивы к болезни. Смертность черноморской мидии была несколько повышенной (около 5 %), но не массовой. Так, в мае-июле 2018 г. в одном из хозяйств (район г. Новороссийска) кумулятивная смертность молоди устриц с длиной

(высотой) раковины 29-64, в среднем $46,0 \pm 1,50$ мм достигала 75-80 %, а такая же смертность предтоварных и товарных устриц с длиной (высотой) раковины 57-105, в среднем $79,54 \pm 2,40$ мм – до 30 %. В это же время в другом хозяйстве (район г. Анапы) кумулятивная смертность молодежи с длиной (высотой) раковины 18-42, в среднем $28,62 \pm 1,07$ мм достигала 90-100 %, а товарных устриц с длиной (высотой) раковины 75-116, в среднем $87,8 \pm 4,03$ мм – 30-40 %. Общее количество погибших устриц в обоих обследованных хозяйствах оценивалось примерно на уровне 50-100 тыс. экз. Погибшие устрицы, как молодь, так и товарные экземпляры, имели раскрытие створки, между которыми мягкие ткани отсутствовали. Отсутствие статистических различий между раковинами (створками) живых и погибших устриц указывало на быструю гибель моллюсков.

При паразитологических исследованиях у устриц обоих обследованных хозяйств не выявлены признаки раковинной болезни (возбудитель грибок *Ostracoblabe implexa*), нематодпсидоза (возбудитель *Nematopsis legeri*), микроспоридиоза (*Steinhausia mytilovum*). В то же время в этих хозяйствах у устриц обнаружены признаки клиноноза (возбудитель губка *Cliona* (= *Pione*) *vastifica*), возбудители гексамитозоза *Hexamita* sp. (*Hexamita nelsoni*) и полидородоза (*Polydora* sp.), а также условно-патогенные инфузории (представители отряда Scuticociliatida, предположительно *Uronema marinum*). При высокой интенсивности инвазии инфузориями на жабрах устриц отмечались признаки некроза тканей. Обнаруженные нами паразиты и паразитарные заболевания инвазировали небольшую часть исследованных моллюсков (от 7 до 36 %); в силу эпизоотических особенностей этих заболеваний, они могли лишь повышать хронически смертность моллюсков в хозяйствах, но не могли быть первичной причиной их массовой гибели.

В ходе патологоанатомических исследований живых устриц разного размера обнаружено, что они имели высокую долю мягких тканей (высокую наполняемость) и нормальную упитанность. Так, доля мягких тканей в теле товарных устриц, включая мантийную жидкость, в среднем составляла 41,5-44,3 %. Мякоть была характерной желтовато-серой окраски, края мантии – темно-коричневые, мантийная жидкость прозрачная, без посторонних запахов и включений. На поверхности ротовых лопастей, пищеварительной железы, мускула-замыкателя, жабр и мантии моллюсков каких-либо макроскопических патологических изменений не выявлено. Внутренняя перламутровая поверхность створок была белой, гладкой, и не имела повреждений. Лишь у некоторых, преимущественно мелких моллюсков обнаружена рыхлая консистенция пищеварительной железы и осветленная (светло-оранжевая) окраска ее ткани, что является одним из неспецифических признаков герпесвирусного заболевания устриц [10, 13]. На гистологических препаратах, изготовленных из тканей всех 3-х молодых устриц, в клетках соединительной ткани пищеварительной железы и мантии, обнаружена маргинация хроматина (перинуклеарный хроматин) и

пикноз (сморщивание) клеточных ядер. Эти признаки являются одним из признаков герпесвирусной инфекции, вызываемой микровариантом OsHV-1, и служат основанием для постановки предварительного положительного диагноза на это заболевание [10, 13].

Микроскопически обнаруженная нами повышенная бактериальная обсемененность тканей 27,3-30,1 % разновозрастных устриц (мелкие палочковидные бактерии, предположительно родов *Vibrio*, *Aeromonas*, *Proteus* и др.), на наш взгляд, была вторичной инфекцией. У сильно обсемененных бактериями устриц мантийная жидкость приобретала белесую окраску, была не прозрачной (мутной). Жабры некоторых таких устриц имели серый налет, предположительно образованный отслоившимися клетками эпителия. Условно-патогенная и патогенная микрофлора, как и паразиты устриц, могли лишь повышать показатели смертности моллюсков, но не были ее первопричиной. Аналогичная высокая обсемененность патогенными бактериями рода *Vibrio* (*V. splendidus*, *V. aestuarianus* и др.) неоднократно отмечалась в Европе при вспышках герпесвирусной инфекции [16].

Одним из косвенных доказательств возможного заноса герпесвирусной инфекции в Черное море является то обстоятельство, что посадочный материал в этот регион многократно завозили из Франции и других стран Европы, которые уже много лет являются неблагополучными по данному заболеванию [15, 17]. Массовость заболевания, охватившего сразу несколько морских ферм на большом протяжении Кавказского побережья, могла быть обусловлена тем, что фермеры часто пользовались услугами одного поставщика спата устриц.

Выводы и дальнейшие перспективы исследований

Собранные нами данные свидетельствуют о том, что наиболее вероятной причиной внезапной массовой гибели культивируемых тихоокеанских устриц, произошедшей в мае-июне 2018 г. в российских устричных хозяйствах Кавказа (от г. Анапы до г. Сочи), была вспышка герпесвирусного заболевания устриц. Этот диагноз является предварительным, основанным на эпизоотических, клинических, патологоанатомических и гистологических данных. Он нуждается в подтверждении методами электронно-микроскопических, молекулярно-генетических (полимеразная цепная реакция в реальном времени), гистохимических (специфическая in-situ гибридизация) исследований с последующим секвенированием продуктов амплификации [OIE – Manual of Diagnostic Tests ..., 2019]. В случае подтверждения герпесвирусной инфекции в Черное море необходимо разработать комплекс ветеринарных мероприятий, направленных на локализацию инфекции, недопущение ее дальнейшего распространения, в том числе за пределы территориальных вод России, а также внедрить биотехнологические меры по снижению негативного влияния этой опасной инфекции на устричную индустрию юга России. При проникновении герпесвирусной инфекции в Черное море

можно прогнозировать повторение вспышек этого заболевания на Кавказе и в Крыму, а также значительное снижение темпов развития и продуктивности устричной индустрии в этом регионе, как это произошло в Европе.

Список использованной литературы

1. Гаевская А.В., Лебедевская М.В. Паразиты и болезни гигантской устрицы (*Crassostrea gigas*) условиях культивирования. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2010. – 218 с.
2. Инструкция по культивированию черноморской и тихоокеанской видов устриц в разных районах Черного моря. Отчет о НИР. – Керчь: ЮгНИРО, 2007. - 51 с.
3. Лебедевская М.В., Белофастова И.П. Паразиты и заболевания устриц *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) и *Ostrea edulis* (Linne, 1758) в Черном море // «Паразитология в 21 веке: проблемы, методы и решения». Материалы IV Всероссийского съезда Паразитологического общества при РАН. Т. 2. – Санкт-Петербург, 2008. – С. 122-126.
4. Мальцев В.Н. Тихоокеанские устрицы массово гибнут в Черном море // Рыба №1. – 2020. - № 24 (вып. 1). – С. 44-48.
5. МУК 3.2.988-00. Методы санитарно-паразитологической экспертизы рыбы, моллюсков, ракообразных, земноводных, пресмыкающихся и продуктов их переработки. Методические указания (утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 25.10.2000).
6. Роскин Г.И., Левинсон Л.Б. Микроскопическая техника. - М.: Советская наука, 1957. – 467 с.
7. Холодов В.И., Пиркова А.В., Ладыгина Л.В. Выращивание мидий и устриц в Черном море. – Воронеж: ООО «ИЗДАТ-ПРИНТ», 2017. - 508 с.
8. Шкорбатов Г. Л., Старобогатов Я. И. Методы изучения двустворчатых моллюсков // Труды зоологического института. Т. 219. - Л.: Зоологический ин-т АН СССР. – 1990. – С. 153-171.
9. Berthe F. Report about mollusc diseases // Mediterranean aquaculture diagnostic laboratories. – 2004. – V. 49. – P. 33-48.
10. Bower S.M. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish. Date last revised: March 2010 [Electronic resource]. – URL.: <http://www.dfo-mpo.gc.ca/science/aah-saa/diseases-maladies/index-eng.html> (дата обращения: 24.05.2020).
11. FAO Fisheries and Aquaculture Department [Electronic resource]. – URL.: <http://www.fao.org/fishery/aquaculture/en> (дата обращения: 24.05.2017).
12. Infection with Ostreid Herpesvirus 1 microvariant (2020). [Electronic resource]. – URL.: <https://www.cefas.co.uk/international-database-on-aquatic-animal-diseases/disease-data/?id=77> (дата обращения: 5.08.2020).
13. OIE – Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals (2019). [Electronic resource]. – URL.: <http://www.oie.int/international-standard-setting/aquatic-manual/access-online/> (дата обращения: 24.05.2020).
14. Pacific Oyster, *Crassostrea gigas* mortality associated with the Herpesvirus: etiology and environmental emerging factors / Hassou N., Abouchoaib N., Orbi A.,

Ennaji M. M. In: Emerging and Reemerging Viral Pathogens. - Academic Press, 2020. - P. 933-969.

15. Report of the Working Group on Pathology and Diseases of Marine Organisms (WGPDMO), 13-17 February 2018, Riga, Latvia. ICES CM 2018/ASG:01. 42 pp.

16. Solomieu V. B., Renault T., Travers M. A. Mass mortality in bivalves and the intricate case of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* // Journal of invertebrate pathology. – 2015. – V. 131. – P. 2-10.

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

©Мальцев В.Н., 2020

ОПЫТ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЗООПЛАНКТОНА ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ЧЕРНОМОРСКОЙ КАМБАЛЫ-КАЛКАН (*PSETTA MAEOTICA MAEOTICA* PALLAS)

EXPERIENCE OF ZOOPLANKTON CULTIVATION IN THE BLACK SEA TURBOT (*PSETTA MAEOTICA MAEOTICA* PALLAS) FARMING

Новоселова Нина Васильевна^{1,*}, Туркулова Валентина Николаевна^{1,},
Высочин Сергей Владимирович^{1,2}
Novoselova Nina Vasilyevna^{1,*}, Turkulova Valentina Nikolaevna^{1,**},
Vysochin Sergey Vladimirovich^{1,2}**

¹Керченский отдел Азово-Черноморского филиала ВНИРО, г. Керчь, Россия

²Керченский государственный морской технологический университет, г. Керчь, Россия

¹Kerch Department of the Azov-Black Sea Branch of VNIRO, Kerch, Russia

²Kerch State Maritime Technological University, Kerch, Russia

*E-mail: novoselova_n_v@azniirkh.ru ; **E-mail: turkulova_v_n@azniirkh.ru

В работе представлены результаты культивирования морских и солоноватоводных организмов зоопланктона, полученные на научно-исследовательской базе – НИБ «Заветное» (Керченский пролив) за период 2019-2020 гг. Зоопланктон культивировали накопительными (культивирование партиями) и полунепрерывными способами. Кормом для зоопланктона служила питательная смесь. Получаемую сырую биомассу зоопланктонных организмов использовали для кормления личинок и молоди черноморской камбалы-калкан.

Ключевые слова: питательные смеси, культивирование

In this work, the results of cultivation of marine and brackish-water zooplanktonic organisms, obtained at the research facility Research Base “Zavetnoe”