



УДК 594.12:591.12:528.28.288 (262.5)

Н. И. Копытина¹, с.н.с., канд. биол. наук, М. В. Лебедовская^{2,3} вед.н.с., канд. биол. наук

¹ Одесский филиал Института биологии южных морей Национальной академии наук Украины, Одесса, Украина

² Научно-исследовательский центр Вооружённых Сил Украины «Государственный океанариум», Севастополь

³ Институт биологии южных морей Национальной академии наук Украины, Севастополь

МИКРОМИЦЕТЫ – ЭПИБИОНТЫ ГИГАНТСКОЙ УСТРИЦЫ *CRASSOSTREA GIGAS*, КУЛЬТИВИРУЕМОЙ В ЧЁРНОМ МОРЕ

Исследована микобиота раковин культивируемой в Чёрном море гигантской устрицы *Crassostrea gigas*, здоровой и пораженной сверлящей губкой *Pione vastifica*. Идентифицировано 10 видов микроскопических грибов из 9 родов, 7 семейств, 6 порядков, 5 классов, 2 отделов. На раковинах здоровых устриц выявлено 3 вида грибов, на заселённых пионой – 9. Микромицеты *Pseudallescheria boydi* и *Cirrenalia macrocephala* обнаружены на створках как поражённых пионой, так и здоровых моллюсков. В видовом составе грибов присутствовали девять таксонов, причисленных к IV, и один – к III группе патогенности.

Ключевые слова: гигантская устрица *Crassostrea gigas*, сверлящая губка *Pione vastifica*, грибы-эпibiонты, оппортунистические микромицеты, группа патогенности, Чёрное море.

Тихоокеанская (гигантская, японская) устрица *Crassostrea gigas* (Thünberg, 1793) была акклиматизирована в Чёрном море для замены исчезающей обыкновенной устрицы *Ostrea edulis* L., 1758. В нативном ареале в заливе Петра Великого (Японское море) отмечены единичные случаи поражения гигантской устрицы сверлящей губкой *Pione vastifica* (= *Cliona vastifica* Hancock, 1849), причём лишь устриц из естественных поселений, в то время как на культивируемых моллюсках губка не встречается [11]. В экспериментальном устричном хозяйстве Научно-исследовательского центра Вооружённых Сил Украины «Государственный океанариум» в бухте Казачья (г. Севастополь, Чёрное море) заселение гигантской устрицы губкой *P. vastifica* начинается уже с годовалого возраста и достигает 80 % у особей старше 4 лет [4]. Выявлена положительная корреляция между встречаемостью у устриц губки и их заселённостью микроорганизмами [7].

Исследования микобиоты эпibiоза гигантской устрицы, выращиваемой в Чёрном море, ранее практически не проводились. Выявлен один случай раковинной болезни *C. gigas*, вызванной морским микроскопическим грибом *Ostracoblabe implexa* Bornet & Flahault, 1889. Предполагается, что причиной восприимчивости устриц к этому заболеванию

были условия содержания, приведшие к сильному заилению и истощению моллюсков [10].

Цель работы – изучить видовой состав микромицетов-эпibiонтов раковин гигантской устрицы, как здоровых особей, так и поражённых сверлящей губкой *P. vastifica*.

Материал и методы. Исследования проводились в сентябре 2012 г. в экспериментальном хозяйстве НИЦ ВС Украины «Государственный океанариум», расположенном в бухте Казачья (г. Севастополь). Устрицы содержались в обшитых хамсерозом садках, выставленных на носителе в центральной части бухты Казачья на расстоянии 80 м от берега. Расстояние от садков до дна составляло 4 – 5 м, от садков до поверхности 2 – 3 м. Дно в районе установки носителя каменисто-песчаное. Температура воды в море в этот период составляла 20°C. Для исследований были выбраны 20 одноразмерных особей *C. gigas* возрастом 5 лет (высота раковины 116.4 ± 10.6 мм), из них 10 экз., поражённых пионой, и 10 экз., свободных от неё. Площадь поражения раковин губкой достигала 70 – 100%.

Перед проведением микологического посева раковины устриц измельчали и выдерживали в течение 2 ч в стерильной морской воде со смесью антибиотиков (пенициллин – 500 тыс. ед. · л⁻¹ и

стрептомицин – $0.5 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$) для подавления роста сопутствующих бактерий [1, 8]. Микроскопические грибы выделяли из фрагментов створок моллюсков, отмытых от раствора антибиотиков, на целлюлозо-содержащие субстраты-приманки (стерильные полоски фильтровальной бумаги и опилки древесины тополя) и микробиологические среды (агар Чапека-Докса, agar triptosa-sulfito-cicloserina (TSL-agar), дрожжевой экстракт (yeast extract agar, YEA).

Микромицеты идентифицировали с помощью ключа-определителя [14].

Результаты и обсуждение. В составе микромицетов-эпибионтов гигантской устрицы идентифицировано 10 видов микроскопических грибов из 9 родов, 7 семейств, 6 порядков, 5 классов, 2 отделов.

На раковинах здоровых моллюсков выявлено 3 вида грибов: плодовые тела сумчатого гриба *Pseudallescheria boydii* (Shear) McGinnis, A.A. Padhye & Ajello 1982, конидии *Cirrenalia macrocephala* (Kohlm) Meyers, R. T. Moore, 1960 и низший гриб *Rhizopus oryzae* Went & Prins. Geerl. 1895.

Количество видов грибов, обнаруженных на поражённых губкой раковинах, было в 3 раза больше, чем на здоровых моллюсках. На поражённых раковинах выявлены плодовые тела *Chaetomium globosum* Kunze, 1817, *Ch. cochliodes* Palliser, 1910, *P. boydii*, *Remispora quadriremis* (Hohnk) Kohlm., 1960, конидиальные спороношения *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., 1912, *Monodictys pelagica* (T. Johnson) E.V.G. Jones, 1963, *C. macrocephala* и низшие грибы *Cunninghamella elegans* Lendn., Bull. Herb. Boissier, 1905 и *Mortierella* sp.

Поселяясь на раковинах моллюсков *P. vastifica* просверливает в них отверстия и на протяжении всей своей жизни строит каналы и формирует обширные полости. При сильном поражении моллюсков губка проникает и в конхиолиновый слой раковины, при этом на её внутренней поверхности образуются бугорки, сквозные отверстия, что ослабляет раковину и делает её ломкой. Диаметр входных отверстий, просверленных пионией в раковинах исследованных нами устриц, составлял 0.2 – 0.4, выводных – 0.7 – 1.5 мм [4]. Вероятно, рыхлая

структура раковины, увеличение её поверхности за счёт перфорации, ослабление моллюсков, создают благоприятные условия для поселения грибов на поражённых пионией устрицах.

В Японском море на раковинах устрицы выделены 11 видов мицелиальных грибов, 7 из которых идентифицированы: *Alternaria litorea* (Pivkin & Zvereva) E.G. Simmons 2007, *A. alternata*, *A. tenuissima* (Kunze) Wiltshire 1933, *Fusarium oxysporum* var. *orthoceras* (Appel & Wollenw.) Bilař 1987, *F. lateritium* Nees 1816, *Penicillium digitatum* var. *californicum* Thom 1930, *Trichoderma aureoviride* Rifai 1969 [2]. Таким образом, в эпибиозе грибов гигантской устрицы Японского и Чёрного морей обнаружен только один общий вид-космополит – *A. alternata*.

В сообщества перифитона входят организмы, характерные для водной толщи и донных отложений, поэтому видовой состав грибов-эпибионтов устриц, растущих в садках на носителе, определяет микобиота всей экосистемы. По литературным данным, в бухте Казачья насчитывается 108 видов микромицетов [1, 12, 13], здесь обнаружены представители родов *Chaetomium*, *Alternaria*, *Mortierella*, *Rhizopus*, а также морские микромицеты *C. macrocephala* и *M. pelagica*. На раковинах моллюсков в других регионах известны *Chaetomium* spp., *Alternaria* spp., *C. macrocephala* и *M. pelagica* [2, 5, 6], что свидетельствует о приуроченности перечисленных микромицетов к этому типу субстрата. Остальные таксоны грибов можно считать эпибионтами устриц условно.

Потенциально патогенные грибы, обитающие в окружающей среде, вызывают оппортунистические и аллергические заболевания человека и животных. Моллюски-фильтраторы способны накапливать токсичные метаболиты грибов, в результате чего при употреблении в пищу такие моллюски представляют опасность отравления людей [3].

Грибы-эбиобионты устрицы бухты Казачья отнесены к III и IV группам риска по классификации групп патогенности микроорганизмов России и Украины, что, согласно определению Всемирной организации здравоохранения, соответствует группам BSL-2 и BSL-1. Микроорганизмы, входящие в группу III (BSL-2), способны вызывать заболевания человека и животных, но не представляют серьёзной угрозы для их жизни и окружающей среды.

Микроорганизмы из группы IV (BSL-1) характеризуются низким уровнем риска и не вызывают серьёзных заболеваний человека и животных. К данной группе в Европейском Союзе относят все без исключения мицелиальные грибы и дрожжи, не включённые в предыдущие более опасные категории [9]. В нашей работе мы придерживались этой классификации.

Среди обнаруженных микроскопических грибов 9 видов принадлежат к IV группе риска. К III группе относится *P. boydii* (анаморфная стадия *Scedosporium apiospermum* Sacc. ex Castell. & Chalm., 1919), способный расти в аэробных и строго анаэробных условиях. Этот вид распространён в почве, навозе, загрязнённых прудах, морской воде и донных отложениях. *P. boydii* вызывает у человека заболевание, называемое моноспориозом или аллешериозом (глубокий микоз, протекающий в форме менингита, менингоэнцефалита или мицетомы). Попадание воды из водоёма, загрязнённого спорами и клетками гиф микромицета, в лёгкие человека может привести к развитию тяжёлой грибковой пневмонии, формированию абсцессов головного мозга и даже к летальному исходу [15]. Микромицет *P. boydii*

ранее был обнаружен на створках мидий и в донных отложениях Одесского торгового порта (Копытина, неопубл. данные).

При выборе мест установки носителей для выращивания моллюсков необходимо учитывать места поступления терригенных стоков и характер течений в акватории для предотвращения заражения выращиваемых моллюсков оппортунистическими наземными грибами. Кроме того, для предотвращения массового заселения устриц сверлящей губкой и грибами необходимо проводить систематический контроль садков для своевременного изъятия заражённых моллюсков, т.е. проводить профилактические меры, принятые в практике культивирования моллюсков.

Выводы. 1. Впервые исследована микобиота раковин культивируемой в Чёрном море гигантской устрицы *Crassostrea gigas* (Thünberg, 1793), здоровой и поражённой сверлящей губкой *Pione vastifica* (Hancock, 1849). **2.** На створках устриц выделены 10 видов микроскопических грибов из 9 родов, 7 семейств, 6 порядков, 5 классов, 2 отделов. Из них 9 видов причислены к IV, а один к III группе патогенности. Преобладание в составе эбиобиоза раковин устриц не патогенных грибов свидетельствует о благоприятных условиях культивирования моллюсков в бухте Казачья. **3.** На раковинах устриц, поражённых *P. vastifica*, выявлено в 3 раза больше видов грибов, чем у здоровых моллюсков. Вероятно, это связано с тем, что губка создаёт благоприятные условия для поселения грибов: разрыхляет структуру и увеличивает площадь поверхности раковины за счёт её перфорации, ослабляет моллюсков.

1. Артемчук Н. Я. Микофлора морей СССР. – М.: Наука, 1981. – 190 с.
2. Борзых О. Г., Зверева Л. В. Микробиота гигантской устрицы *Crassostrea gigas* (Thünberg, 1793) (Bivalvia) из залива Петра Великого Японского моря // Микробиология. – 2012. – **81**, 1. – С. 117–119.
3. Гаевская А. В. Паразиты, болезни и вредители мидий (*Mytilus*, Mytilidae). III. Грибы (Fungi),

- лишайники (Mycophycophyta), растения (Plantae). – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2007. – 97 с.
4. Гаевская А. В., Лебедевская М. В. Паразиты и болезни гигантской устрицы в условиях культивирования. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2010. – 218 с.
5. Зверева Л. В., Борзых О. Г. Мицелиальные грибы в эбиобиозе раковины тихоокеанской устрицы

- Crassostrea gigas* (Bivalvia) в заливе Петра Великого Японского моря / Экология водных беспозвоночных: международ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения Ф. Д. Мордухай-Болтовского (Борок, ИБВВ РАН, 30 октября – 2 ноября 2010 г.): сборн. научн. тр. – Ярославль: Принтхаус, 2010. – С. 99 – 101.
6. Копытина Н. И. Распространение грибов рода *Chaetomium* Kze: Fr (Ascomycota) в северо-западной части Чёрного моря // Микология и фитопатология. – 2005. – **36**, 5. – С. 12 – 18.
 7. Лебедевская М. В. Морфометрические и микробиологические показатели гигантской устрицы *Crassostrea gigas*, культивируемой в Чёрном море, при поражении сверлящей губкой *Pione vastifica* // Морск. экол. журнал. – 2013. – **12**, № 1. – С. 48 – 51.
 8. Литвинов М. А., Дудка И. А. Методы исследования микроскопических грибов пресных и солёных (морских) водоёмов. – Л.: Наука, 1975. – 151 с.
 9. Озлрская С. М., Иванушкина Н. Е., Кочкина Г. А. Микроскопические грибы в связи с проблемами биологической безопасности (обзор) // Пробл. медиц. микологии. – 2011. – **13**, 3. – С. 3 – 12.
 10. Пиркова А. В., Дёменко Д. П. Случаи раковинной болезни у гигантской устрицы *Crassostrea gigas* (Bivalvia), культивируемой в Чёрном море // Биология моря. – 2008. – **34**, № 5. – С. 359 – 364.
 11. Рыбаков А. В. Паразиты и комменсалы промысловых моллюсков в заливе Петра Великого Японского моря / Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1986. – 36 с. - (Препринт / Институт биологии моря ДВНЦ АН СССР; № 15).
 12. Смирнова Л. Л. Комплексы гетеротрофных микроорганизмов прибрежного мелководья бухты Казачья (Чёрное море) // Морск. экол. журнал. – 2010. – **9**, № 2. – С. 81 – 88.
 13. Смирнова Л. Л., Копытина Н. И., Телига А. В. Микробиота кожи афалин (*Tursiops truncatus*), морской воды и донных отложений в прибрежных вольерах (Чёрное море, Севастополь) // «Морские млекопитающие Голарктики»: VII междунар. конф. (Суздаль, 24 – 28 сентября 2012 г.): сб. научн. тр. – Суздаль, 2012. – С. 239 – 244.
 14. De Hoog G. S., Guarro J., Gene J., Figueras M. J. Atlas of clinical fungi. 2nd edition. – Central bureau voor Schimmelcultures. – 2000. – 1126 p.
 15. Guarro J., Kantarcioglu A. S., Horre R., Rodriguez-Tudela J. L., Estrella M. C., Berenguer J., De Hoog G. S. *Scedosporium apiospermum*: changing clinical spectrum of a therapy-refractory opportunist // Medical Mycology. – 2006. – **44**. – P. 295 – 327.

Поступила 08 августа 2013 г.

После доработки 20 марта 2014 г.

Мікроміцети-епібіоти гігантської устриці (*Crassostrea gigas*), яку культивують у Чорному морі. Н. І. Копитіна, М. В. Лебедевська. Досліджена мікобіота раковин гігантської устриці *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), що культивують у Чорному морі, здоровою та ураженою сверлячою губкою *Pione vastifica* (Hancock, 1849). Ідентифіковано 10 видів мікроскопічних грибів з 9 родів, 7 родин, 6 порядків, 5 класів, 2 відділів. На раковинах здорових устриць виявлено 3 види грибів, на заселених піоною – 9. У видовому складі грибів присутні дев'ять таксонів, віднесених до IV, а один – до III групи патогенності.

Ключові слова: гігантська устриця *Crassostrea gigas*, перфоруєча губка *Pione vastifica*, гриби-епібіоти, опортуністичні мікроміцети, група патогенності, Чорне море.

Epibiotic micromycetes in a giant oyster *Crassostrea gigas*, cultivated in the Black Sea. N. I. Kopytina, M. V. Lebedovskaya. Mycobiota of healthy and infected with boring sponge *Pione vastifica* (Hancock, 1849) shells of giant oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), cultivated in the Black Sea, has been investigated. 10 species of microscopic fungi from 9 genera, 7 families, 6 orders, 5 classes, 2 orders have been identified. 3 species of micromycetes have been found on healthy oyster's shells, 9 species were identified on infected shells. Micromycetes *Pseudallescheria boydii* (Shear) McGinnis, AA Padhye & Ajello, 1982 and *Cirrenalia macrocephala* (Kohlm) Meyers, R. T. Moore, 1960 were found both on shells of healthy and infected with sponges molluscs. Nine fungi's taxons are referred to the Group IV, and one – to the Group III of pathogenicity.

Keywords: giant oyster *Crassostrea gigas*, boring sponge *Pione vastifica*, epibiotic fungi, opportunistic fungi, group of pathogenicity, the Black Sea