

УДК 582.28:597.2(265.4)

## МИКОБИОТА ДАЛЬНЕВОСТОЧНОЙ НАВАГИ *ELEGINUS GRACILIS* (TILESIUS, 1810) И АЗИАТСКОЙ КОРЮШКИ *OSMERUS MORDAX DENTEX* STEINDACHNER & KNER, 1870 В ЗАЛИВЕ ПЕТРА ВЕЛИКОГО ЯПОНСКОГО МОРЯ

© 2020 г. Л. В. Зверева<sup>1</sup>, \*, О. Г. Борзых<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия

\*e-mail: zvereva\_lv@mail.ru

Поступила в редакцию 17.04.2019 г.

После доработки 02.12.2019 г.

Принята к публикации 30.01.2020 г.

В результате микологического обследования в кожных покровах и во внутренних органах дальневосточной наваги *Eleginus gracilis* и азиатской корюшки (зубатки) *Osmerus mordax dentex* из Амурского залива Японского моря выделено 105 изолятов мицелиальных грибов (соответственно 31 и 74 изолята). У дальневосточной наваги обнаружено три вида мицелиальных грибов: *Aspergillus flavus* Link, *Penicillium brevicompactum* Dierckx и *Phialophorophoma* sp.; у азиатской корюшки — шесть видов: *Aspergillus wentii* Wehmer, *Aspergillus* sp., *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries, *Penicillium albidum* Sopp., *Penicillium nigricans* (Bain.) Thom и *Humicola grisea* Traaen. Все они представляли анаморфные стадии сумчатых грибов. У дальневосточной наваги наиболее заселенными грибами органами были жабры (три вида грибов), в мышцах и печени обнаружено по два вида грибов, в кожных покровах и гонадах — по одному виду. У азиатской корюшки распределение грибов было иным: в кожных покровах обнаружено четыре вида грибов, в жабрах — три вида, в мышцах и на плавниках — по два вида, в печени и гонадах — по одному виду.

**Ключевые слова:** морские мицелиальные грибы, дальневосточная навага *Eleginus gracilis*, азиатская корюшка *Osmerus mordax dentex*, залив Петра Великого, Японское море

DOI: 10.31857/S0134347520040105

Проблема микобиотического заражения рыб постоянно возникает в практике рыболовства и при искусственном воспроизводстве рыбных ресурсов как в аквакультуре, так и при разработке биотехнологий получения рыбопродукции. Контроль состояния рыб является неотъемлемой частью разных направлений современной аквариумистики, включая содержание и разведение рыб в океанариумах.

Хорошо известны инфекционные болезни (микозы) рыб. Они вызываются грибными организмами разного филогенетического статуса. Это могут быть сапролегниозы, бранхиомикозы, иктиофноз, кандидомикоз, а также микотоксикозы (афлатоксикозы, фузариотоксикозы, охратоксикозы и др.). Причиной заболеваний являются грибные токсины, попадающие в организм рыб при поедании ими корма, зараженного микроскопическими грибами (Neish, Hughes, 1980; Noga, 1990; Исаева и др., 1995; Головина др., 2003). Исследования патогенных и токсинообразующих грибов, заселяющих внутренние органы промыс-

ловых видов рыб, необходимы для безопасного использования рыбы в пищу и для предотвращения токсикологических инфекций людей. Это особенно актуально с вступлением России во Всемирную торговую организацию (ВТО), где существуют жесткие требования к регламентации рыбопродукции на содержание патогенных микроорганизмов и их токсинов.

В дальневосточном регионе России ресурсными объектами служат многие виды морских рыб, в том числе дальневосточная навага *Eleginus gracilis* (Tilesius, 1810) и азиатская корюшка *Osmerus mordax dentex* Steindachner & Kner, 1870 (Новикова, 2007; Соколовский и др., 2009; Голубь и др., 2012). Микологические исследования этих видов до настоящего времени не проводились.

Цель данного исследования — изучить таксономический состав микобиоты дальневосточной наваги *E. gracilis* и азиатской корюшки *O. mordax dentex* в местах их обычных скоплений, а также традиционного любительского и промышленного лова в зал. Петра Великого Японского моря.

**Таблица 1.** Видовой состав и количество изолятов мицелиальных грибов, выделенных из органов дальневосточной наваги *Eleginus gracilis* (1) и азиатской корюшки *Osmerus mordax dentex* (2)

Вид	Кожа		Жабры		Мышцы		Печень		Гонада		Плавники	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
<i>Aspergillus flavus</i>	6/4	—	13/5	—	—	—	—	—	3/1	—	—	—
<i>As. wentii</i>	—	8/4	—	11/4	—	4/1	—	1/1	—	2/1	—	10/4
<i>Aspergillus</i> sp.	—	—	—	3/1	—	2/1	—	—	—	—	—	—
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	—	13/4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Humicola grisea</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7/1
<i>Penicillium albidum</i>	—	9/3	—	1/1	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>P. brevicompactum</i>	—	—	7/3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>P. nigricans</i>	—	3/1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Phialophorophoma</i> sp.	—	—	2/2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Всего изолятов	6	33	22	15	—	6	—	1	3	2	—	17

Примечание. Над чертой — количество изолятов грибов; под чертой — количество рыб; “—” — не обнаружен.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для микологических исследований служили по 10 особей дальневосточной наваги *Eleginus gracilis* и азиатской корюшки *Osmerus mordax dentex*, которые были выловлены в Амурском заливе в районе о-ва Скребцова (зал. Петра Великого Японского моря) методом подледного лова в январе 2013 г. Рыб помещали в стерильные пакеты и до камеральной обработки хранили при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$  в морозильной камере. Затем рыб размораживали и препарировали. Препарированные органы (кожа, жабры, мышцы, печень, гонады, плавники) трехкратно промывали в стерильной морской воде и в течение 2 ч вымачивали в растворе антибиотиков (500 тыс. ед. пенициллина и 0.5 г стрептомицина на 1 л стерильной морской воды) (Артемчук, 1981) для подавления сопутствующей бактериальной флоры, затем промывали в стерильной морской воде для удаления антибиотиков.

Кусочки органов размером  $5 \times 5$  мм раскладывали на поверхность агаризованной питательной среды, по 5–7 фрагментов на чашку Петри для каждой особи рыб и каждого органа. Грибы, выросшие в смешанных культурах, пересеивали на свежую питательную среду для получения чистых культур.

Для выделения и культивирования грибов использовали универсальную среду Сабуро, приготовленную на профильтрованной и разбавленной (75%) морской воде, pH среды 7.5–7.8 (Литвинов, Дудка, 1975; Артемчук, 1981; Методы экспериментальной микологии, 1982). Перед разливом в чашки Петри в среду добавляли антибиотики пенициллин (500 тыс. ед./л) и стрептомицин (0.5 г/л), тщательно размешивая до полного растворения.

Для идентификации выделенных грибов использовали общепринятые ключи и определители (Ellis, 1971; Ramirez, 1982; Егорова, 1986; Билай, Коваль, 1988; Саттон и др., 2001; Klich, 2002). Современный таксономический статус мицелиальных грибов приведен в соответствии с Международной базой данных грибов Index Fungorum (<http://www.speciesfungorum.org>).

Штаммы мицелиальных грибов хранятся в коллекции микроорганизмов ЦКП Биоресурсного центра “Морской биобанк” Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (г. Владивосток).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При обследовании рыб в чистую культуру выделено 105 изолятов морских мицелиальных грибов: из дальневосточной наваги — 31 изолят, из азиатской корюшки — 74 изолята. В органах дальневосточной наваги обнаружено три вида мицелиальных грибов: *Aspergillus flavus* Link, *Penicillium brevicompactum* Dierckx и *Phialophorophoma* sp.; в органах азиатской корюшки — шесть видов: *Aspergillus wentii* Wehmer, *Aspergillus* sp., *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries, *Penicillium albidum* Sopp., *Penicillium nigricans* (Bain.) Thom и *Humicola grisea* Traaen (табл. 1). Все виды представляли анаморфные стадии сумчатых грибов.

Из 10 особей дальневосточной наваги без явных признаков патологии грибы обнаружены у шести рыб, у четырех рыб грибы не выявлены. По два вида грибов обнаружено у четырех особей наваги, по одному виду грибов — у двух особей. Изоляты *A. flavus* (22 изолята) составляли 71% от общего числа изолятов, *P. brevicompactum* (7 изолятов) — 22.6% и *Phialophorophoma* sp. (2 изолята) — 6.4%.

Из 10 особей азиатской корюшки без явных признаков патологии грибы обнаружены у шести рыб, у четырех рыб грибы не выявлены. По три вида грибов обнаружено у двух особей корюшки, по два вида грибов – у четырех рыб. Изоляты *A. wentii* (36) составляли 48.6% от общего числа изолятов, *Aspergillus* sp. (5) – 6.8%, *C. cladosporioides* (13) – 17.6%, *P. albidum* (10) – 13.5%, *P. nigricans* (3) – 4% и *H. grisea* (7) – 9.5%.

У дальневосточной наваги наибольшее количество видов грибов обнаружено в жабрах (три вида), в мышцах и печени обнаружено по два вида грибов, в кожных покровах и гонадах найден один вид (*A. flavus*) (табл. 1). Всего из кожных покровов наваги выделено 6 изолятов грибов (19.3% от общего числа изолятов), из жабр – 22 изолята (71%), из гонад – 3 (9.7%).

У азиатской корюшки распределение грибов было несколько иным. В кожных покровах обнаружено четыре вида грибов, в жабрах – три вида, в мышцах и на плавниках – по два вида, в печени и гонадах – по одному виду (табл. 1). Распределение изолятов грибов от их общего количества было следующим: из кожных покровов выделено 33 изолята грибов (44.6%), из жабр – 15 изолятов (20.3%), из мышц – 6 (8.1%), из печени – 1 изолят (1.3%), из гонад – 2 изолята (2.7%), из плавников – 17 изолятов (23%).

Соотношение количества изолятов каждого вида грибов к количеству зараженных ими особей дальневосточной наваги и азиатской корюшки по каждому органу варьировало (табл. 1).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Наши исследования показали, что в первую очередь мицелиальные грибы заселяют кожу и жабры. В желудочно-кишечный тракт споры грибов попадают с пищей. Кровь, циркулируя через заселенный грибами жаберный аппарат, разносит их по внутренним органам и тканям. Слизь рыб, обладая защитными антимикробными свойствами, препятствует развитию микроорганизмов (Ведемейер и др., 1981; Вихман, 1996). Этим можно объяснить различие в количестве обнаруженных видов грибов на коже азиатской корюшки и дальневосточной наваги, имеющей более обильный слизевой покров.

В результате микологического обследования дальневосточной наваги и азиатской корюшки не выявлено сходства комплексов мицелиальных грибов – ассоциантов данных видов рыб: не обнаружено ни одного общего вида грибов.

Обследованные нами рыбы не имели видимых патологий органов и тканей, однако в любом обществе большое число здоровых особей является потенциальным носителем различных заболеваний. Показано, что морские и речные гидро-

бионты повторяют микробное состояние своей среды обитания (Пивоваров и др., 1985; Liston, 1988, 1990; Ларцева, 1992; Ларцева, Катунин, 1993). При этом промысловые объекты прибрежного лова имеют большую бактериальную обсемененность, чем выловленные в море (Шульгина и др., 1995).

Выделенные нами из органов рыб мицелиальные грибы ранее были найдены в грунтах Амурского залива (Пивкин, 2010), в голотуриях (Pivkin, 2000) и во внутренних органах двустворчатого моллюска *Mizuhopecten yessoensis* (см.: Borzykh, Zvereva, 2014). Представители родов *Aspergillus*, *Cladosporium* и *Penicillium* являются обычными микромицетами на гидробионтах в морских и пресноводных водоемах; они обнаружены на осетровых в бассейне Каспийского моря (Ларцева, 1992; Воронина, 2010), на промысловых видах рыб в реках, озерах и водохранилищах России (Воронин, 1986), а также на икре лососевых в рыбобитомнике “Пуща-Водица” (Украина) (Исаева и др., 1995).

Грибы родов *Aspergillus*, *Cladosporium* и *Penicillium* относятся к группе потенциально патогенных (оппортунистических) и токсинообразующих грибов, способных вызывать микозы и микотоксикозы гидробионтов из морских и пресноводных местообитаний (Исаева и др., 1995; Головина и др., 2003). Грибы, принадлежащие к роду *Cladosporium*, изолировали из гиперплазированного эпителия жабр трески *Gadus mohrua*, анаморфный гриб *Hormoconis* (*Cladosporium*) *resinae* вызывал изъязвление тканей камбалы *Hippoglossoides platessoides* (см.: Strongman et al., 1997). При микологическом обследовании анчоусовидной тюльки *Clupeonella engrauliformis* из Каспийского моря, имевшей злокачественные опухолевые (грануломатозные) образования печени, селезенки и семенников, были выявлены грибы родов *Aspergillus* и *Alternaria* (см.: Воронина, 2010). Анаморфные грибы *Penicillium corylophilum* и *Cladosporium sphaerospermum* являлись возбудителями микозов у красного окуня *Lutjanus campechanus* (см.: Blaylock et al., 2001). Наибольшую опасность в пищевых продуктах представляют аспергилловые грибы, образующие афлатоксины (Голова, Дедюхина, 1986).

Грибы рода *Aspergillus* являются продуцентами микотоксинов: афлатоксинов (*A. flavus*, *A. parasiticus* и др.), охратоксинов (*A. ochraceus*), стеригматоцистинов (*A. versicolor*, *A. nidulans*) и глиотоксинов (*A. fumigatus*); они способны вызывать микотоксикозы у человека, а также у водных и наземных животных. Известно, что афлатоксины обладают канцерогенным действием (Билай, Коваль, 1988). *A. flavus*, выделенный из двустворчатого моллюска *M. yessoensis*, обитающего в Амурском заливе, продуцировал афлатоксины, которые накаплива-

лись в его внутренних органах (Зверева и др., 2009). Микотоксины *A. flavus* и *A. parasiticus* вызывают афлатоксикоз у культивируемых ракообразных, который приводит к некрозу пищеварительной железы (Sindermann, Lightner, 1988).

Таким образом, в результате проведенного микологического обследования дальневосточной наваги *Eleginus gracilis* и азиатской корюшки (зубатки) *Osmerus mordax dentex* установлен таксономический состав мицелиальных грибов. Показано, что основными местами локализации грибов являются кожные покровы и жабры рыб.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследования морских мицелиальных грибов поддержаны грантом ДВО РАН "Дальний Восток" № 18-4-050.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Артемух Н.Я. Микофлора морей СССР. М.: Наука. 1981. 192 с.
- Билай В.И., Коваль Э.З. Аспергиллы. Киев: Наукова думка. 1988. 204 с.
- Ведемейер Г.А., Мейер Ф.П., Смит Л. Стресс и болезни рыб. М.: Легкая пром-сть. 1981. 127 с.
- Вихман А.А. Системный анализ иммунофизиологической реактивности рыб в условиях аквакультуры. М.: Экспедитор. 1996. 174 с.
- Воронин Л.В. Грибы, развивающиеся на лещах и судаках некоторых пресных водоемов // Микология и фитопатология. 1986. Т. 20. Вып. 5. С. 353–361.
- Воронина Е.А. Микозное заболевание анчоусовидной тюльки (*Clupeonella engrauliformis*, Borodin) в Каспийском море // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. Сер.: Рыб. хоз-во. 2010. № 2. С. 10–13.
- Голова Ж.А., Дедюхина В.П. Микробиология рыбы и рыбных продуктов. М.: Агропромиздат. 1986. 148 с.
- Головина Н.А., Стрелков Ю.А., Воронин В.Н. и др. Ихтиопатология. М.: Мир. 2003. 448 с.
- Голубь Е.В., Батанов Р.Л., Голубь А.П. Материалы по биологии азиатской корюшки *Osmerus mordax Dentex* (Osmeridae) из водоемов Чукотки // Вестн. Северо-Восточ. науч. центра ДВО РАН. 2012. № 2. С. 50–62.
- Егорова Л.Н. Почвенные грибы Дальнего Востока. Гифомицеты. Л.: Наука. 1986. 191 с.
- Зверева Л.В., Стоник И.В., Орлова Т.Ю., Чикаловец И.В. Миколого-токсикологические исследования двусторчатых моллюсков // Бюл. Моск. о-ва испыт. природы. Отд. биол. 2009. Т. 114. № 3 S1. С. 322–324.
- Исаева Н.М., Давыдов О.Н., Дудка И.А., Неборачек И.С. Микозы и микотоксикозы рыб. Киев: Институт зоологии НАН Украины. 1995. 168 с.
- Ларцева Л.В. Микобиота осетровых рыб Волго-Каспийского бассейна // Микология и фитопатология. 1992. Т. 26. Вып. 1. С. 23–26.
- Ларцева Л.В., Катунин Д.Н. Микрофлора рыб – биоиндикатор загрязнения дельты Волги // Вод. биоресурсы, воспроизводство и экология. 1993. Т. 69. С. 7–27.
- Литвинов М.А., Дудка И.А. Методы исследования микроскопических грибов пресных и соленых (морских) водоемов. Л.: Наука. 1975. 151 с.
- Методы экспериментальной микологии. Справочник / Под ред. В.И. Билай. Киев: Наукова думка. 1982. 550 с.
- Новикова О.В. Дальневосточная навага *Eleginus gracilis* (Til.) прикамчатских вод: Дис. ... канд. биол. наук. 29.05.2007. Петропавловск-Камчатский: Камчат. гос. техн. ун-т. 2007. 161 с.
- Пивкин М.В. Вторичные морские грибы Японского и Охотского морей: Дис. ... д-ра биол. наук. М.: МГУ. 2010. 407 с.
- Пивоваров Ю.П., Подъяснев С.В. Аэробная микрофлора свежельвленной и мороженой промысловой рыбы // Гигиена и санитария. 1985. № 6. С. 80–81.
- Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов. М.: Мир. 2001. 486 с.
- Соколовский А.С., Соколовская Т.Г., Яковлев Ю.М. Рыбы залива Петра Великого. Владивосток: Дальнаука. 2009. 375 с.
- Шульгина Л.В., Загородная Г.И., Шульгин Ю.П. и др. Микрофлора дальневосточных морей и ее влияние на продукцию из промысловых объектов // Гигиена и санитария. 1995. № 1. С. 14–16.
- Borzykh O.G., Zvereva L.V. Comparison of Fungal Complexes of Japanese Scallop *Mizuhopecten yessoensis* (Jay, 1856) from Different Areas in the Peter the Great Bay of the Sea of Japan // Microbiology (Moscow). 2014. V. 83. № 5. P. 684–689.
- Blaylock R.B., Overstreet R.M., Klich M.A. Mycoses in red snapper (*Lutjanus campechanus*) caused by two deuteromycete fungi (*Penicillium corylophilum* and *Cladosporium sphaerospermum*) // Hydrobiologia. 2001. V. 460. P. 221–228.
- Ellis M.B. Dematiaceae Hyphomycetes, England, Surrey: CMI. 1971. 608 p. *Index Fungorum*: <http://www.speciesfungorum.org>
- Klich M.A. Identification of Common *Aspergillus* species. Netherlands: Centraalbureau voor Schimmeldaturs, 2002. 116 p.
- Liston J. Microorganisms as a cause of economic loss to the seafood industry // Oceans'88; Proc; Baltimore, Oct. 31. 1988. № 1. P. 52–55.
- Liston J. Microbial hazards of seafood consumption // Food Technol. 1990. V. 44. № 12. P. 58–62.

- Neish G.A., Hughes G.C.* Fungal diseases of Fishes // Eds. S.F. Snieszko, H.R. Axelrod. Diseases of Fishes. Book 6. T.F.H. Publ. Inc. Ltd. 1980. 159 p.
- Noga E.J.* A synopsis of mycotic diseases of marine fishes and invertebrates // Pathology in Mar. Sci. New York: Academic Press. 1990. P. 143–160.
- Pivkin M.V.* Filamentous fungi associated with holothurians from the Sea of Japan, off the Primorye coast of Russia // Biol. Bull. 2000. V. 198. P. 101–109.
- Ramirez C.* Manual and Atlas of the Penicillia // New York–Amsterdam: Elsevier Biomedical Press. 1982. 874 p.
- Sindermann C.J., Lightner D.V.* Diseases Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture. Amsterdam: Elsevier Science Publishers. 1988. 431 p.
- Strongman D.B., Morrison C.M., McClelland G.* Lesions in the musculature of captive American plaice *Hippoglossoides platessoides* caused by the fungus *Hormoconis resiniae* (Deuteromycetes) // Dis. Aquat. Org. 1997. V. 28. P. 107–113.

## **Mycobiota of the Saffron Cod *Eleginus gracilis* (Tilesius, 1810) and the Asiatic Smelt *Osmerus mordax dentex* Steindachner & Kner, 1870 in Peter the Great Bay of the Sea of Japan**

**L. V. Zvereva<sup>a</sup> and O. G. Borzykh<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>*A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia*

A mycological examination of the Saffron cod *Eleginus gracilis* (Tilesius, 1810) and the Asiatic smelt *Osmerus mordax dentex* Steindachner & Kner, 1870, caught in the Amursky Bay (Peter the Great Bay of the Sea of Japan) revealed several species of filamentous fungi. In total, 105 isolates of filamentous fungi were obtained from the skin integument and internal organs (31 isolates from the Saffron cod and 74 isolates from the Asiatic smelt). Three species of filamentous fungi were found in the Saffron cod: *Aspergillus flavus* Link, *Penicillium brevicompactum* Dierckx, and *Phialophorophoma* sp. Six species of filamentous fungi were found in the Asiatic smelt: *Aspergillus wentii* Wehmer, *Aspergillus* sp., *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries, *Penicillium albidum* Sopp., *Penicillium nigricans* (Bain.) Thom, and *Humicola grisea* Traaen. All the species identified represent anamorphic stages of ascomycetes. In the Saffron cod, the organs, most frequently involved by fungi, were gills (three fungus species found), two species of fungi were found in muscles and liver; and one species in each was identified in the skin integument and in gonads. Distribution of fungi in the Asiatic smelt was different: four fungus species were revealed in the skin integument, three species in the gills, two species in muscles, one species in the liver, one species in the gonads, and two species – on the fins.

**Keywords:** marine filamentous fungi, the Saffron cod *Eleginus gracilis*, the Asiatic smelt *Osmerus mordax dentex*, Peter the Great Bay, Sea of Japan