ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2378
https://elibrary.ru/WZPKCN

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Оценка биологической безопасности антарктического криля *Euphausia superba* (Dana, 1852) из вод Атлантического океана

О. И. Лазарева[1,*], А. М. Сытов[2]

[1] *Пермский государственный аграрно-технологический университет имени академика Д. Н. Прянишникова, Пермь, Россия*

[2] *Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия*

Поступила в редакцию: 01.03.2022
Принята после рецензирования: 29.03.2022
Принята к публикации: 05.04.2022

**О. И. Лазарева: ol.manina@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-2108-275X*
А. М. Сытов: https://orcid.org/0000-0002-0476-4548

© О. И. Лазарева, А. М. Сытов, 2022

Аннотация.
Euphausia superba – крупнейший источник животного белка в мировом океане. Возобновление и развитие промысла антарктического криля в России является перспективным направлением. В связи с этим интерес представляет оценка его биологической безопасности. Цель исследования – анализ образцов антарктического криля *E. superba* на наличие паразитов и микроорганизмов, способных отрицательно влиять на его санитарную оценку.
Материалом послужили особи антарктического криля *E. superba* (n = 130), выловленные в сезон 2019–2020 гг. Росрыболовством в 69-м рейсе СТМ «Атлантида». Применяли методы неполного гельминтологического исследования, включая компрессорный, а также микробиологические и гистологические исследования.
При визуальном осмотре, гельминтологическом вскрытии и компрессорной микроскопии криля не выявлено личинок гельминтов и простейших. При микробиологическом исследовании на показатели безопасности, согласно ТР ТС 021/2011, ТР ЕАЭС 040/2016 и СанПиН 2.3.2.1078-01, значения КМАФАнМ составило менее $1{,}0\times10^3$ при 37 и 25 °С. Условно-патогенных и патогенных микроорганизмов не обнаружено. На питательных средах для обнаружения стафилококков выросли колонии не идентифицированных кокков. При посеве материала на среде Сабуро при 24 °С на чашках выросли микроскопические грибы рода *Penicillium* в количестве $3{,}0\times10^2$. При гистологическом исследовании препаратов из сегментов тела рачков (карапакс, жабры, внутренние органы) паразитологических организмов, патолологических включений и изменений в тканях не отмечено.
Исследованный антарктический криль свободен от паразитов и безопасен в микробиологическом отношении. Поэтому он может быть использован для пищевого производства и других целей, но при контроле на исключение *Vibrio parahemolyticus* и *Listeria monocytogenes*.

Ключевые слова. Ракообразные, микроорганизмы, паразиты, бактерии, грибы, безопасность

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО) на 2020 г. № 076-00005-20-02 от 14 февраля 2020 г., а также комплексной экспедиционной Программы выполнения ресурсных исследований криля и исследований экосистемы Южного океана (Атлантический сектор Антарктики) на 2018–2023 гг., утвержденной руководителем Росрыболовства от 1 декабря 2017 г.

Для цитирования: Лазарева О. И., Сытов А. М. Оценка биологической безопасности антарктического криля *Euphausia superba* (Dana, 1852) из вод Атлантического океана // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 449–457. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2378

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2378
https://elibrary.ru/WZPKCN

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

Biological Safety Assessment of Antarctic Krill *Euphausia superba* (Dana, 1852) from the Atlantic Ocean

Olga I. Lazareva[1,*], Aleksandr M. Sytov[2]

[1] *Perm State Agro-Technological University named after academician D.N. Pryanishnikov, Perm, Russia*

[2] *Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow, Russia*

Received: 01.03.2021
Revised: 29.03.2022
Accepted: 05.04.2022

**Olga I. Lazareva: ol.manina@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-2108-275X*
Aleksandr M. Sytov: https://orcid.org/0000-0002-0476-4548

© O.I. Lazareva, A.M. Sytov, 2022

Abstract.
The development of the Antarctic krill fishery is a promising direction of Russian food industry. *Euphausia superba* is the largest source of animal protein in the global oceans. According to the Commission for the Conservation of Antarctic Marine Living Resources (CCAMLR), the year of 2021 saw a steady increase in the global catch of krill. The Government of the Russian Federation approved a program for the development of the oceanic fishery for crustaceans. The assessment of its biological safety is of particular interest because the extraction of this raw material in Russia is currently undergoing a restoration process. The purpose of the study was to analyze samples of Antarctic krill *E. superba* for parasites and microorganisms that could affect its sanitary condition.
The study featured the microplankton of *E. superba* crustaceans (n = 130) caught in 2019–2020 by the Federal Agency for Fishery. The methods included an incomplete helminthological analysis, as well as compressor, microbiological, and histological studies.
The visual inspection, helminthological dissection, and compressor microscopy revealed no helminth larvae or protozoa. In a microbiological study for safety indicators according to CU TR 021/2011, EAEU TR 040/2016 and Sanitary Rules and Norms SanPiN 2.3.2.1078-01, the quantity of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms (QMAFAnM) were did not exceed 1.0×10^3 at 37 and 25°C. Opportunistic and pathogenic microorganisms were not detected. When examining cultivate for the isolation of *Staphylococci*, were found Cocci, but we did not identify them. When the material was sown on the Sabouraud nutrient medium at 24°C, *Penicillium* microscopic fungi grew on the plates in the amount of 3.0×10^2. Histological examination of carapace, gills, and internal organs detected no parasitological organisms, pathological inclusions, or any tissue changes. The Antarctic krill contained no parasites and was microbiologically safe. After tests on *Vibrio parahemolyticus* and *Listeria monocytogenes*, it can be used in the food industry.

Keywords. Crustaceans, microorganisms, parasites, bacteria, fungi, safety

Funding. The work was part of the state task of the Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO) for 2020, No. 076-00005-20-02, February 14, 2020, as well as part of the integrated research program for krill resources and the ecosystem of the Atlantic Antarctica for 2018–2023, approved by the Federal Agency for Fisheries on December 1, 2017.

For citation: Lazareva OI, Sytov AM. Biological Safety Assessment of Antarctic Krill *Euphausia superba* (Dana, 1852) from the Atlantic Ocean. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):449–457. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2378

Введение

Антарктический криль *Euphausia superba* – пелагический циркумполярный вид ракообразных из семейства эвфаузиид (*Euphausiidae*), который встречается в антарктических и субантарктических водах Южного океана. Благодаря широкой распространенности, уникальному химическому составу и пищевой ценности его считают важным промысловым объектом и называют «розовым золотом» [1, 2].

В 1970–1980 гг. промысел криля велся судами СССР и Японии, но в последние годы лидерами по его добыче его являются Норвегия, Корея и Китай [3]. В России утверждена Стратегия развития деятельности

Российской Федерации в Антарктике до 2030 г., в которой ресурсам криля уделено большое значение [4].

Рыбная промышленность широко использует Антарктический криль в качестве сырья для производства разного рода продукции [1]. Его перерабатывают на кормовую белковую пасту и протеиновую муку для аквакультуры, чаще лосося [3, 5]. В индустрии питания популярны такие продукты переработки криля, как крилевая паста, мясо, консервы и масло. Фармацевтическая промышленность выпускает биологически активные вещества и лечебные препараты [1]. Для зарубежных ученых приоритетным направлением является получение белковых и жировых фракций, а также эмульсии для пищевых целей [6–8].

Несмотря на преимущества данного промыслового ресурса, в научной литературе встречаются неоднозначные данные в отношении показателей безопасности. Наибольшее количество исследований посвящено определению показателей токсичности. Установлено высокое содержание фтора в панцире, поэтому публикации последних лет посвящены разработке методик дефторирования антарктического криля и продукции из него [9–11]. Обнаружена способность антарктического криля биоаккумулировать токсичные техногенные загрязнители: хлорорганические пестициды, стойкие органические загрязнители, броморганические соединения, а также высокие концентрации ртути и метилртути [12–15]. Данные химические вещества накапливаются в морских экосистемах и липидах гепатопанкреаса [12]. Небезопасен антарктический криль в отношении стероидных экзогенных гормонов, особенно глюкокортикостероидов. Негативные последствия представляют опасность для организмов и их последующих потребителей в пищевой цепи [16].

Криль является одним из основных поддерживающих факторов пищевой цепи Антарктики для морских млекопитающих, птиц и многих видов рыб, в том числе микробных сообществ [17–19]. Популяция криля представляет собой большое количество биомассы, которая может служить резервуарным или промежуточным хозяином различных паразитических организмов. В отношении изучения паразитических организмов антарктического криля имеются лишь единичные сведения [3, 18].

Микробиологический профиль криля исследован с помощью молекулярно-генетических методов. Исследования санитарно-показательных, условно-патогенных и патогенных микроорганизмов выполнены более двадцати лет назад.

Показатели безопасности нормируются действующими регламентами ТР ТС 021/2011, ТР ЕАЭС 040/2016 и СанПиН 2.3.2.1078-01. Они определяют нормативные значения токсикологических, микробиологических и радиологических показателей. Относительно паразитологических показателей для морских ракообразных данные отсутствуют.

Цель исследования – анализ образцов антарктического криля *E. superba* на наличие паразитических организмов и микроорганизмов, представляющих опасность для человека и животных.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования являлись свежезамороженные рачки *Euphausia superba* (n = 130) разного пола и размера (рис. 1). Пробы были предоставлены специалистом сектора биоресурсов Антарктики ФГБНУ «ВНИРО». Образцы были получены в ходе выполнения комплексных исследований состояния запасов антарктического криля и океанологических условий в подрайонах Антарктической части Антарктики в 69-м рейсе СТМ «Атлантида» в январе 2020 г. в море Скотия к северу от Южных Оркнейских островов в координатах 58°58' ю.ш. 45°37' з.д. – траловая станция № 39.

Определение общей длины тела криля, пола, стадий половой зрелости, цвета, наличия и отсутствия черно-пятнистой болезни ракообразных выполнялись в соответствии с общепринятыми методиками и рекомендациями АНТКОМ. Для паразитологического исследования ракообразных на наличие личинок паразитов тщательно просматривались органы, полости тела и ткани (МУК 3.2.988-000). Затем мышечные ткани криля исследовали методом компрессионной микроскопии. Для обнаружения паразитических простейших готовили мазки-отпечатки тканей тела рачков, которые фиксировали этиловым спиртом и окрашивали по Романовскому, а затем микроскопировали при увеличении ×100, ×400, ×1000. Подготовку проб замороженных рачков к микробиологическому анализу выполняли по ГОСТ 26669. Культивирование микроорганизмов проводили по ГОСТ 26670. Растворы, реактивы, краски, индикаторы и питательные среды для анализа приготавливали по ГОСТ ISO 7218 и ГОСТ ISO 11133. Определяли следующие микробиологические показатели на соответствие

Рисунок 1. Рачки антарктического криля *Euphausia superba* после размораживания

Figure 1. *Euphausia superba* after defrosting

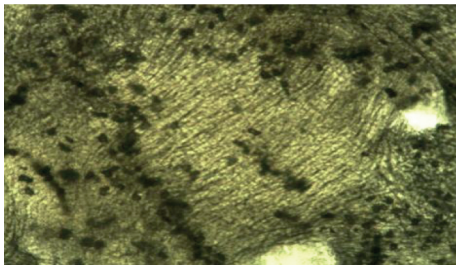

Рисунок 2. Мышцы абдомена (ув. ×100)

Figure 2. Abdominal muscles (mag. ×100)

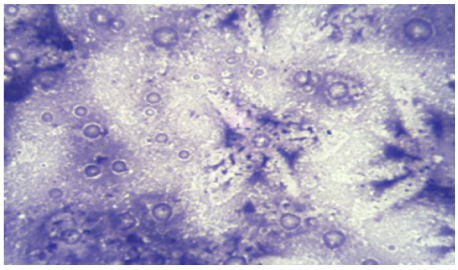

Рисунок 3. Мазок-отпечаток тела *Euphausia superba* (окраска по Романовскому; ув. ×1000)

Figure 3. Stroke-imprint of the body of *Euphausia superba* (Romanovsky stain; mag. ×1000)

параметрам ТР ТС 021/2011, ТР ЕАЭС 040/2016, СанПиН 2.3.2.1078-01: количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов по ГОСТ 10444.15, осуществляя термостатирование посевов при 25 и 37 °С; бактерии группы кишечной палочки (колиформы) – по ГОСТ 31747; *Staphylococcus aureus* – по ГОСТ 31746; патогенные микроорганизмы рода сальмонелла – по ГОСТ 31659 (ISO 6579). Параллельно пробы исследовали на наличие и количество дрожжей и плесневых грибов по ГОСТ 10444.12. Для выполнения гистологического исследования тело рачков разрезали на сегменты в области головогруди и брюшка размером 10 мм и помещали в раствор 4 %-ного нейтрального формалина. Гистологические препараты готовили по стандартной методике с последующим окрашиванием гематоксилин-эозином в лаборатории гистопатологии Пермской краевой детской клинической больницы. Микроскопирование готовых микропрепаратов выполняли на кафедре инфекционных болезней факультета ветеринарной медицины и зоотехнии Пермского ГАТУ на микроскопе Meiji (Япония) при увеличении ×100. Результаты фиксировали с помощью фотокамеры Vision (Канада).

Результаты и их обсуждение

Из представленных 130 образцов криля практически все рачки были без механических повреждений, окраска печени – зелено-коричневая. Размеры варьировались от 38 до 57 мм. В пробе были представлены самки посленерестовой стадии зрелости IIIE и зрелые самцы стадии IIIB. При осмотре цефалоторакса и плеопод на наличие эпибионтов внешних проявлений не обнаружено.

При просмотре с помощью компрессория препаратов мышц абдомена включений и возбудителей *Anisakis* spp. в пробах не зафиксировано (рис. 2). При микроскопии окрашенных мазков-отпечатков тела рачков паразитических простейших не выявлено (рис. 3).

Сообщения о паразитических организмах в *Euphausia superba* редки. Для антарктического криля характерно наличие нескольких типов специфических патогенов: эпибионты, патогенные микроорганизмы, паразиты, паразитойды и предположительно вирусы. Последние данные сообщают об инфузориях эпибионтах и гистофагах, хитинолитических бактериях и грибах, а также эндопаразитах, представленных апикомплексами и нематодами, поражающими икру [3, 20]. Существуют паразиты, которые могут представлять потенциальную опасность для человека и животных. Из паразитических нематод эвфаузиид патогенными для человека могут быть представители семейства *Anisakidae*. В литературе нет сообщений о заражении этими гельминтами *E. superba*. Однако известно, что они встречаются среди эвфаузиид умеренной и субтропической зон и арктической экосистемы. J. Gomez-Gutierrez и J. R. Morales-Avila сообщают, что исследование образцов антарктических криля (35 и 92 тыс.) и морских млекопитающих на наличие *Anisakis* spp. не дало положительных результатов [21].

У мигрирующих глубоководных костистых рыб и китов, которые питаются антарктическим крилем, обнаруживают *Anisakis simplex* и *Anisakis pegreffii*. Это объясняется заражением нематодами в пределах северных широт, точнее, за границами Атлантики [21]. Есть предположение, что на паразитарную зараженность криля влияют характеристики стаи и поведение отдельных особей. Плотность стаи определяет паразитарную нагрузку: чем ниже ее плотность, тем ниже паразитарное воздействие. Некоторым паразитам для завершения жизненных циклов требуются стаи с высокой численностью, компактным роением и стайным (эмерджентным) поведением. Размер и продолжительность жизни рачков также имеют немаловажное значение. Молодые особи более подвержены инфекциям и инвазиям. Однако существует гипотеза, согласно которой низкие температуры неблагоприятны для развития паразитов и патогенов [22]. J. Gomez-Gutierrez и J. R. Morales-Avila считают, что пониженное разнообразие паразитов у *E. superba* связано с их антарктической

Таблица 1. Результаты микробиологических исследований замороженного антарктического криля
Table 1. Microbiological studies of frozen Antarctic krill

Показатели	ВНИРО [23]	Фактический результат	ТР ТС 021/2011 ТР ЕАЭС 040/2016* СанПиН 2.3.2.1078-01**
Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов при 37 и 25 °С, КОЕ/г, не более	Не более $1,6\times10^3$	Менее $1,0\times10^3$	Не более 5×10^4; $1,0\times10^{5*}$; $1\times10^{3**}$
Бактерий группы кишечной палочки (колиформы), г	Не обнаружено	Не обнаружено в 1,0–0,00001 г	Не допускаются в 0,001 г
Патогенные микроорганизмы, в том числе рода сальмонелла, г	Не обнаружено	Не обнаружено в 25 г	Не допускаются в 25 г
Listeria monocytogenes, г	Не обнаружено	Не определяли	Не допускаются в 25 г
Staphylococcus aureus, г	Обнаружены *Micrococcus*	Обнаружены кокки в 0,1 г	Не допускаются 0,01 г
Плесневые грибы, КОЕ/г	$0,4\times10^2$–$3,2\times10^2$	$3,0\times10^2$	Не нормируется
Дрожжи, КОЕ/г	$0,2\times10^2$–$1,3\times10^2$	Не обнаружено	Не нормируется
Vibrio parahaemolyticus, КОЕ/г	Не обнаружено	Не определяли	Не более 100

зоогеографической структурой, куда паразиты еще не вторглись эволюционно по сравнению с другими видами членистоногих из экосистем других широт [21].

В действующих отечественных регламентах ТР ТС 021/2011, ТР ЕАЭС 040/2016 и СанПиН 2.3.2.1078-01 паразитологические показатели для морских ракообразных, в частности криля, отсутствуют. Они представлены только для пресноводных креветок водоемов Дальнего Востока, в которых не допускается наличие личинок парагонимусов в живом виде.

При микробиологическом исследовании замороженного криля были получены результаты, представленные в таблице 1. Значение КМАФАнМ замороженного криля при 37 и 25 °С составило менее $1,0\times10^3$ КОЕ/г. Полученные данные согласуются с исследованиями, полученными ВНИРО, также представленными в таблице 1 [23]. Согласно этим данным микрофлора свежевыловленного криля, а именно мезофильных бактерий, не превышала $1,6\times10^3$ кл/г при 37 и 25 °С, а психрофилов, культивируемых при температуре ниже +10 °С, составила $4,0\times10^4$ кл/г. Микробная обсемененность морской воды, выполненная методом мембранных фильтров, не превышала $4,2\times10^3$ в 1 мл. Если сравнивать полученный показатель с действующими нормативными документами, то представленная проба соответствует нормативному значению, несмотря на длительное хранение.

Посев разведений образца на среды для определения условно-патогенных бактерий группы кишечной палочки не дал результата. Аналогичные данные при определении этой группы бактерий получены ВНИРО как в отношении свежевыловленного криля, так и морской воды. При культивировании на средах для определения патогенных микроорганизмов, в т. ч. сальмонелл, регистрировали отсутствие роста. В свежевыловленном криле санитарно-показательные и условно-патогенные микроорганизмы обнаружены не были [23].

При определении санитарно-показательных микроорганизмов, таких как стафилококки и стрептококки, в объеме пробы 0,1 г отмечали рост на желточно-солевом агаре с образованием гладких круглых колоний белого цвета, определяемые по морфологии как грамположительные кокки (рис. 4). Генетическая идентификация выделенных микроорганизмов не проводилась. Результаты подтверждаются ранее проведенными (ВНИРО) исследованиями, в которых морфологически выделяли кокки и короткие палочки из психрофилов и мезофилов.

Согласно проведенным ранее исследованиям сотрудниками ВНИРО при пересевах бактерий,

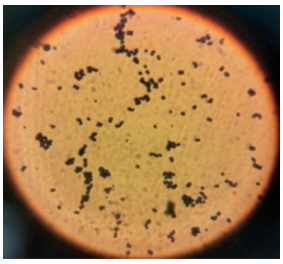

Рисунок 4. Кокки. Препарат чистой культуры из колонии выросшей на желточно-солевом агаре через 48 ч при 37 °С (окраска по Граму; ув. ×100)

Figure 4. Cocci. Pure culture from a colony grown on yolk and salt agar after 48 h at 37°C (Gram stain; mag. ×100)

выросших при 37 °C, отмечено угнетение их роста на обычных питательных средах и последующая гибель. По предположению ученых, это говорит о более низких температурах для их культивирования [23].

Невысокую обсемененность криля исследователи связывали с низкой температурой и низкой загрязненностью морских вод в районе промысла. Эти выводы подтверждают результаты современных исследований. Оптимальная температура для выделения бактерий, актинобактерий и грибов криля составляет 16, 16 и 28 °C соответственно. Из 25 бактериальных изолятов 92 % были выделены при 16 °C, оставшиеся при 4 °C. Это *Streptomyces* sp. и *Advenella* sp. [24].

При исследовании видового состава микрофлоры методом поверхностного посева различных разведений на разные питательные среды преобладали пигментообразующие формы бактерий, неспоровые психрофилы и мезофилы [23]. Нами они не выявлены.

Обнаружено, что среди микрофлоры свежевыловленного криля присутствуют бактерии-антагонисты окружающей микрофлоры. Отмечено, что чистые культуры выделенных бактерий хорошо росли на питательных средах с содержанием 12–14 % натрия хлорида. При идентификации были определены следующие роды бактерий: *Micrococcus*, *Pseudomonas* и *Bacillus* [23].

Микробиота криля *E. superba* изучена с помощью молекулярно-генетических исследований. Установлено, что на количественный состав микрофлоры ракообразных влияют окружающая среда, время года, связанное с откормом, наполненность желудочно-кишечного тракта криля, сами ткани и органы, простейшие эпибионты – инфузории. Бактериальные сообщества формируются в зависимости от географического региона. Бактерии криля отличаются от бактерий морской воды [18]. При изучении бактерии эпибионтов установлено, что каждая стая криля поддерживает свой индивидуальный микробиом [19]. Установлено, что наибольшие качественные различия наблюдаются среди бактерий, связанных с экзоскелетом. Преобладающими бактериями эпибионтами является класс *Gammaproteobacteria* типа протеобактерий, меньше – класс *Bacteroidia* типа *Bacteroidetes*, еще меньше – класс *Alphaproteobacteria*. Из протеобактерий в образцах линьки преобладает род *Colwellia*, в пищеварительной системе – род *Pelomonas* [18]. Доминантными культивируемыми бактериями пищеварительного тракта рачков являются *Pseudomonas*, *Actinobacteria*, *Flavobacteria*, а также *Micrococcus*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Corynebacterium* и *Clostridium*. При этом бактерии рода *Pseudoalteromonas*, *Psychrobacter*, *Staphylococcus* и *Vibrio* потенциально являются условно-патогенными [3]. Дополнительно у криля выделены роды *Planococcus*, *Advenella* и *Streptomyces* [23].

Рисунок 5. Микроскопические грибы рода *Penicillium* выросшие через 5 суток инкубации при 24 °C (ув. ×4)

Figure 5. Microscopic *Penicillium* fungi after 5 days of incubation at 24°C (mag. ×4)

Установлено, что микробную порчу *E. superba* при хранении и транспортировке вызывают доминирующие протеобактерии рода *Psychrobacter* [25]. Y. Wang и L. Ma обнаружили и идентифицировали новый штамм бактерий рода *Planococcus P. alpniumensis* из Антарктиктического криля [26].

На среде Сабуро обнаружены однотипные бархатистые колонии серовато-зеленых с белой периферической частью микроскопических грибов рода *Penicillium* (рис. 5) в количестве $3{,}0\times10^2$. Их видовую идентификацию не проводили. По данным [23] количество плесеней (клеток/грамм) в криле из Атлантического сектора составило $0{,}4\times10^2$–$3{,}2\times10^2$, дрожжей – $0{,}2\times10^2$–$1{,}3\times10^2$. *Penicillium* вызывает порчу пищевых продуктов и является менее токсигенным грибом по сравнению с родами *Aspergillus* и *Fusarium.* Для выявления наличия токсинообразования разработаны генетические методы, но они не адаптированы для пищевой микологии [27].

Результаты проведенного микологического исследования согласуются с более ранними результатами [23, 24]. При генетическом изучении микрофлоры *E. superba* идентифицировано 42 вида гриба, принадлежащих к типу *Ascomycota*, включающие пять родов (*Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Talaromyces* и *Meyerozyma*). Доминирующей группой из микроскопических грибов был род *Penicillium* [24]. При исследовании поверхностного горизонта морской воды в большинстве проб определены плесени рода *Penicillium*. Обнаружены дрожжи, относящиеся к отделу *Basidiomycota* родов *Rhodotorula* и *Sporobolomyce*. В отношении дрожжей *E. superba* в литературе имеется мало данных. Ранее психрофильные дрожжи выделяли в небольшом количестве из кишечника [3]. По последним данным, у *E. superba* обнаружены неклассифицированные *Saccharomycetes* [25].

Результаты исследований последних лет сообщают о недостаточной изученности иммунного ответа у эвфаузиид. Не изучена противомикробная и противогрибковая активности, образование свободных радикалов и реакция на окислительный стресс. Это приводит к плохому пониманию влияния эпибионтов, патогенов, паразитов и паразитойдов не только на эвфаузиид, но и на хищников зоопланктона и нектона криля. P. J. Seear и др. при генетическом исследовании экспресии иммунных генов эвфаузиид выделили иммунные протеазы и белки: катепсины и лектины С-типа, гемоцианин, которые обладают антибактериальной и противогрибковой, противовирусной и регенерирующей активностями [22].

X. Cui и др. изучали бактерии и грибы, выделенные от *E. superba*, на антибактериальную активность против распространенных водных патогенных бактерий, опасных для морской флоры, фауны и людей: *Vibrio vulnificus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahemolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Edwardsiella tarda* и *Bacillus cereus*, а также пяти патогенных микроорганизмов для человека: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas aeruginosa*. Исследования показали, что метаболиты бактерий *Psychrobacter* и *Bacillus* проявляли большую антимикробную активность против водных патогенных бактерий [24].

Среди грибов активность в отношении тех же организмов проявил *Penicillium* sp. У *Penicillium citrinum*, полученного от криля, определено семь соединений, обладающих антипролиферативным действием в отношении культур опухолевых клеток. S.-Y. Zhang и др. выделили пятнадцать антиоксидантных пептидов из белков антарктического криля, производство которых перспективно для применения в продуктах питания и продуктах для здоровья. Ученые предположили, что микробиота *E. superba* при помощи антимикробных и цитотоксических метаболитов защищает своего хозяина от условно-патогенных и патогенных микроорганизмов из-за их антагонистических отношений [28].

При микроскопии гистологических препаратов из сегментов тела рачков головогруди и брюшка отмечали характерный рисунок строения тканей. Внимание уделяли мышечной ткани, которая имеет основное значение для получения продуктов питания. Гистологическое исследование показало в ней в отдельных полях зрения присутствие дезорганизации мышечных волокон и наличие отека между отдельными волокнами и соединительнотканной прослойкой без признаков воспалительной реакции. Это стало следствием замораживания и последующего оттаивания материала (рис. 6). При большем увеличении объектива в миоцитах отмечали вакуолизацию ядер из-за воздействия кристаллов льда. Паразитических организмов среди тканевых структур образца не обнаружено.

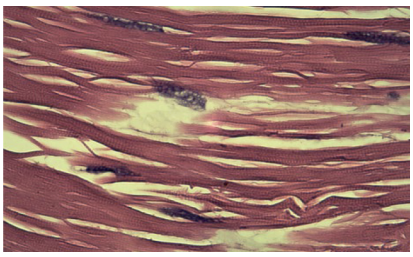

Рисунок 6. Мышечные волокна криля (окраска гематоксилином-эозином; ув. ×40)

Figure 6. Muscle fibers of krill (hematoxylin-eosin stain; mag. ×40)

S. Miwa и др. выполняли гистологическое исследование черных пятен головогруди антарктического криля. Гистологические исследования показали, что они представлены меланизированными узелками, состоящими из гемоцитов, окружающих бактерии или аморфный материал. При генетических исследованиях пятен были выделены *Psychrobacter* или *Pseudoalteromonas*. В некоторых пробах из меланизированных участков были выделены также неидентифицированные паразиты, окруженные гетероморфными клетками. Ученые объясняют этиологию данных пятен наличием паразитарной инфекции, которая после миграции паразитов осложнилась бактериальной. В предоставленных образцах криля черные пятна отсутствовали [28].

Среди специфических паразитических простейших антарктического криля встречаются эпибионты и эндопаразиты. Инфузории-эпибионты поражают головогрудь, брюшко и придатки (щетинки плеопод грудных конечностей). К эндопаразитам кишечника и гепатопанкреаса, передаваемым трофически, относятся грегарины и цефалоидофориды [3]. A. C. Cleary и др. проводили генетическое исследование содержимого кишечника (рациона) криля на наличие паразитов [20]. Среди шести таксономических разных групп превалировали инфузории *Pseudocollinia* spp., нематоды, характерные для пингвинов, *Stegophorus macronectes* и апикомплексы кишечника. Так как это тема недостаточно изучена, то считается, что не все перечисленные паразитические организмы характерны для *E. superba* – часть из них является случайными объектами рациона. Для исключения неправильных результатов и выводов рекомендуется перед проведением исследований предварительно выдержать криль в фильтрованной морской воде несколько часов и совмещать молекулярную диагностику с микроскопией, которая дает дополнительную достоверную информацию [18]. Полученные отрицательные результаты объясняются тем, что грегарины, локализующиеся в пищеварительной

системе *E. superba*, регистрируются при помощи молекулярной диагностики [3, 30].

Исследованный антарктический криль свободен от паразитов и безопасен в микробиологическом отношении. Поэтому он может быть использован для пищевого производства и других целей, но при контроле на исключение *V. parahemolyticus* и *L. monocytogenes*.

Выводы

В результате паразитарного и компрессорного исследования 130 образцов криля-сырца, добытого в море Скотия, не обнаружено паразитов, представляющих опасность для человека.

При изучении микробного фона замороженного криля КМАФАнМ составило менее $1{,}0\times10^3$. Анализ качественного состава нормируемых по НД микроорганизмов позволил выявить кокки, культивируемые при 37 °С.

Фунгифлора представлена однотипными колониями рода *Penicillium* ($3{,}0\times10^2$ КОЕ/г). Определение показателя представляло интерес, но регламентами он не нормируется.

При гистологическом исследовании сегментов головогруди и абдомена патологических изменений тканей и паразитических организмов не обнаружено.

Критерии авторства

О. И. Лазарева – проведение исследований, анализ экспериментальных данных и выводы. А. М. Сытов – сбор и первичная обработка материалов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Выражаем благодарность старшему научному сотруднику ФГБНУ «ВНИРО» А. В. Согриной за оказание сотрудничества в проведении исследований, а также научной группе, в частности Д. А. Козлову, и экипажу СТМ «Атлантида» за помощь в сборе и обработке материалов в ходе 69-й экспедиции.

Contribution

O.I. Lazareva performed the research, analyzed the experimental data, and draw conclusions. A.M. Sytov collected and processed the research materials.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Acknowledgements

We would like to express our gratitude to A.V. Sogrina, senior researcher at the Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, as well as to D.A. Kozlov, the research team, and the crew of RV Atlantida for their help in collecting and processing materials during Expedition 69.

References/Список литературы

1. Andreev MP. Antarctic krill (Euphausia superba) – the past, present and the future development of technology processing. Problems of Fisheries. 2021;22(1):5–15. (In Russ.). https://doi.org/10.36038/0234-2774-2021-22-1-5-15

2. Wang R, Song P, Li Y, Lin L. An integrated, size-structured stock assessment of Antarctic krill, *Euphausia superba*. Frontiers in Marine Science. 2021;8. https://doi.org/10.3389/fmars.2021.710544

3. Siegel V. Biology and ecology of Antarctic krill. Cham: Springer; 2016. 441 p. https://doi.org/10.1007/978-3-319-29279-3

4. Bandurin KV, Kasatkina SM. Development of Russian resource reserch and fishery for krill *Euphausia superba*: problems and prospects. Problems of Fisheries. 2021;22(2):20–26. (In Russ.). https://doi.org/10.36038/0234-2774-2021-22-2-20-26

5. Kaur K, Kortner TM, Benitez-Santana T, Burri L. Effects of Antarctic krill products on feed intake, growth performance, fillet quality, and health in salmonids. Aquaculture Nutrition. 2022;2022. https://doi.org/10.1155/2022/3170854

6. Li Y, Zeng Q-H, Liu G, Peng Z, Wang Y, Zhu Y, *et al.* Effects of ultrasound-assisted basic electrolyzed water (BEW) extraction on structural and functional properties of Antarctic krill (*Euphausia superba*) proteins. Ultrasonics Sonochemistry. 2021;71. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105364

7. Xie D, He F, Wang X, Wang X, Jin Q, Jin J. Diverse krill lipid fractions differentially reduce LPS-induced inflammatory markers in RAW264.7 macrophages in vitro. Foods. 2021;10(11). https://doi.org/10.3390/foods10112887

8. Li Y, Peng Z, Tan L, Zhu Y, Zhao C, Zeng Q-H, *et al.* Structural and functional properties of soluble Antarctic krill proteins covalently modified by rutin. Food Chemistry. 2022;379. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132159

9. Zhang H-Y, Cao M-X, Fodjo EK, Kong C, Cai Y-Q, Shen X-S, *et al.* Safety of Antarctic krill (*Euphausia superba*) as food source: its initial fluoride toxicity study. Food Science and Technology. 2019;39(4):905–911. https://doi.org/10.1590/fst.11418

10. Fang B, Wang Z-H, Shi W-Z, Wang L-L, Chen X-Y. Study on the removal of various morphological fluorine in Antarctic krill meat by calcium salt. Modern Food Science and Technology. 2018;34(8):64–68. https://doi.org/10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.8.010

11. Yan G, Bao Y, Tan M, Cui Q, Lu X, Zhang Y. Defluorination by Donnan Dialysis with seawater for seafood processing. Journal of Food Engineering. 2018;238:22–29. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.05.033

12. Xie J, Tao L, Wu Q, Bian Z, Wang M, Li Y, *et al.* Bioaccumulation of organochlorine pesticides in Antarctic krill (*Euphausia superba*): Profile, influencing factors, and mechanisms. Journal of Hazardous Materials. 2022;426. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.128115

13. Galbán-Malagón CJ, Hernán G, Abad E, Dachs J. Persistent organic pollutants in krill from the Bellingshausen, South Scotia, and Weddell Seas. Science of the Total Environment. 2018;610–611;1487–1495. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.108

14. Markham E, Brault EK, Khairy M, Robuck AR, Goebel ME, Cantwell MG, *et al.* Time trends of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Antarctic biota. ACS Omega. 2018;3(6):6595–6604. https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00440

15. Sontag PT, Steinberg DK, Reinfelder JR. Patterns of total mercury and methylmercury bioaccumulation in Antarctic krill (*Euphausia superba*) along the West Antarctic Peninsula. Science of the Total Environment. 2019;688:174–183. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.176

16. Han X, Liu D. Detection and analysis of 17 steroid hormones by ultra-high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry (UHPLC-MS) in different sex and maturity stages of Antarctic krill (*Euphausia superba Dana*). PLoS ONE. 2019;14(3). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213398

17. Sytov AM. Feedback control procedure for the krill fishery. Modern problems and prospects for the development of the fishery complex: Materials of the V scientific and practical conference of young scientists with international participation; 2017; Moscow. Moscow: VNIRO; 2017. p. 259–263. (In Russ.). [Сытов А. М. О проблемах разработки процедуры управления с обратной связью для промысла криля // Современные проблемы и перспективы развития рыбохозяйственного комплекса: материалы V научно-практической конференции молодых ученых с международным участием. М., 2017. С. 259–263.].

18. Clarke LJ, Suter L, King R, Bissett A, Deagle BE. Antarctic krill are reservoirs for distinct southern ocean microbial communities. Frontiers in Microbiology. 2019;10. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03226

19. Clarke LJ, Suter L, King R, Bissett A, Bestley S, Deagle BE. Bacterial epibiont communities of panmictic Antarctic krill are spatially structured. Molecular Ecology. 2021;30(4):1042–1052. https://doi.org/10.1111/mec.15771

20. Cleary AC, Casas MC, Durbin EG, Gómez-Gutiérrez J. Parasites in Antarctic krill guts inferred from DNA sequences. Antarctic Science. 2019;31(1):16–22. https://doi.org/10.1017/S0954102018000469

21. Gómez-Gutiérrez J, Morales-Ávila JR. Parasites and diseases. In: Siegel V, editor. Biology and ecology of Antarctic krill. Cham: Springer; 2016. pp. 351–386. https://doi.org/10.1007/978-3-319-29279-3_10

22. Seear PJ, Goodall-Copestake WP, Fleming AH, Rosato E, Tarling GA. Seasonal and spatial influences on gene expression in Antarctic krill *Euphausia superba*. Marine Ecology Progress Series. 2012;467:64–75. https://doi.org/10.3354/meps09947

23. Bykova VM. Antarctic krill. Moscow: VNIRO; 2001. 207 p. (In Russ.). [Быкова В. М. Антарктический криль. М.: ВНИРО, 2001. 207 с.].

24. Cui X, Zhu G, Liu H, Jiang G, Wang Y, Zhu W. Diversity and function of the Antarctic krill microorganisms from *Euphausia superba*. Scientific Reports. 2016;6. https://doi.org/10.1038/srep36496

25. Wang F, Sheng J, Chen Y, Xu J. Microbial diversity and dominant bacteria causing spoilage during storage and processing of the Antarctic krill, *Euphausia superba*. Polar Biology. 2021;44(1):163–171. https://doi.org/10.1007/s00300-020-02789-x

26. Wang Y, Ma L, He J, Liu Z, Weng S, Wang L, *et al.* Whole genome sequencing and comparative genomic analyses of *Planococcus alpniumensis* MSAK28401^{T}, a new species isolated from Antarctic krill. BMC Microbiology. 2021;21(1). https://doi.org/10.1186/s12866-021-02347-3

27. Efimochkina NR, Sedova IB, Sheveleva SA, Tutelyan VA. Toxigenic properties of mycotoxin-producing fungi. Tomsk State University Journal of Biology. 2019;(45):6–33. (In Russ.). https://doi.org/10.17223/19988591/45/1

28. Zhang S-Y, Zhao G-X, Suo S-K, Wang Y-M, Chi C-F, Wang B. Purification, identification, activity evaluation, and stability of antioxidant peptides from alcalase hydrolysate of Antarctic krill (*Euphausia superba*) proteins. Marine Drugs. 2021;19(6). https://doi.org/10.3390/md19060347

29. Miwa S, Kamaishi T, Matsuyama T, Hayashi T, Naganobu M. Histopathology of Antarctic krill, *Euphausia superba*, bearing black spots. Journal of Invertebrate Pathology. 2008;98(3):280–286. https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.04.004

30. Shields JD. Collection techniques for the analyses of pathogens in crustaceans. Journal of Crustacean Biology. 2017;37(6):753–763. https://doi.org/10.1093/jcbiol/rux077