

УДК 576.89:597.551.2:639.3

ВЛИЯНИЕ ЗАРАЖЕНИЯ АМЕБОИДНЫМИ ОРГАНИЗМАМИ НА ЗАБОЛЕВАНИЕ ЖАБР У КАРПА (*CYPRINUS CARPIO L.*)

© 2013 г. А.В. Казарникова, Е.В. Шестаковская

Казарникова Анна Владимировна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, Южный научный центр РАН, ул. Чехова, 49, г. Ростов-на-Дону, 344006, e-mail: kazarnikova@mmbi.krinc.ru.

Шестаковская Елена Васильевна – кандидат биологических наук, заведующая отделом, Ростовский отдел ФГУП ЦПС, ул. Обороны, 49, г. Ростов-на-Дону, 344002, e-mail: rfcp@mail.ru.

Kazarnikova Anna Vladimirovna – Doctor of Biological Science, Leading Researcher, Southern Scientific Center of RAS, Checkov St., 41, Rostov-on-Don, Russia, 344006, e-mail: kazarnikova@mmbi.krinc.ru.

Shestakovskaya Elena Vasilevna – Candidate of Biological Science, Head of the Department, Rostov-on-Don Department of CPS, Oborona St., 49, Rostov-on-Don, Russia, 344002, e-mail: rfcp@mail.ru.

Впервые в аквакультуре юга России было зарегистрировано заболевание карпов, вызываемое амёбами. Изучение жабр с помощью светового микроскопа выявило простейших, которые были отнесены к сем. *Paramoebidae*. Морфологические признаки, а также дальнейшие исследования, проведенные с помощью электронного микроскопа, позволили отнести данный организм к роду *Mayorella*. Патологические изменения в жаберном аппарате рыб проявлялись в виде гиперплазии эпителия, срастания жаберных лепестков, некроза мышечной и хрящевой ткани.

Ключевые слова: амёбы, рыбы, заболевание, аквакультура.

The amoebic gill disease was registered at first time in the aquaculture of Southern Russia. The investigation of gills with light microscope showed protozoan organisms, belonged to family *Paramoebida*. Morphological structure and further investigations with the help of electron microscope allowed including of this organism to genus *Mayorella*. Pathological changes in gills were manifested in the form of hyperplasia epithelium, intergrown gill lamella, necrosis of muscle and cartilage tissues.

Keywords: amoebic organisms, fish, disease, aquaculture.

В литературе существует немало публикаций, касающихся обнаружения амёб у водных животных. Некоторые сообщения не связаны с возникновением болезней, другие описывают заболевание и гибель рыб. Наиболее часто регистрировалось заболевание жабр, вызываемое амёбами (Amoebic gill disease – AGD), у рыб в марикультуре Австралии, Ирландии, Испании, США [1]. Некоторые публикации посвящены амёбам, обнаруженным у пресноводных рыб. Пролiferативное заболевание жабр, вызванное амёбами, отмечено у карпа, *Cyprinus carpio* [2, 3], тиляпии, *Tilapia aurea* [4], и европейского обыкновенного сома, *Silurus glanis* [5]. В последнем случае возбудитель принадлежал к роду *Acanthamoeba*.

Заболевания жабр у перечисленных видов рыб зарегистрированы в аквакультуре при интенсивном выращивании. Амёбы являются представителями одноклеточных организмов, которые передвигаются с помощью псевдоподий. Образуют характерные пальцевидные или сосочковидные гиалиновые псевдоподии, которые обычно отходят от широких гиалиновых лопастей.

Часто амёбы могут колонизировать эпителий жабр, возможно, прикрепляясь лектин/гликонъюгатами соединениями [6]. Последнее провоцирует гиперплазию жаберного эпителия, склеивание вторичных жаберных лепестков и срастание жаберных тычинок. В результате сокращается поверхность жаберной ткани, в которой происходит обогащение крови кислородом, растворенным в воде, что оказывает непосредственное влияние на здоровье рыб.

У рыб на территории России паразитируют представители двух семейств – *Paramoebidae* и *Entamoebidae* [7]. В состав первого входят преимущественно морские виды, однако есть и пресноводные организмы. Представители второго семейства являются паразитами различных рыб и животных, в том числе и человека [8].

Заболевание карпа, вызвавшее гибель рыб и проявившееся в патологических изменениях жаберного аппарата, отмечено в одном из рыбоводных хозяйств юга России. Возбудителями явились мелкие одноклеточные амёбиды с эозинофильной зернистостью.

Материал и методы

Исследования проводили в осенний период в одном из прудовых хозяйств. Сто экземпляров карпа было взято на клинический осмотр из хозяйств юга России. На паразитологический анализ – 15 экз. двухлеток карпа из нагульного пруда, в котором зарегистрировано заболевание.

Сбор, фиксацию и дальнейшую обработку паразитов проводили по общепринятым в паразитологии методам [9, 10]. Систематическую принадлежность паразитов определяли по методике из [7]. Кроме этого, использовались руководство по зоологии [8] и книга [1], в которых представлены новые данные по систематике простейших.

При первичной микроскопии нативные препараты из свежих амёб окрашивали раствором Люголя, изу-

чали с помощью светового микроскопа и фотографировали, используя цифровую камеру для микроскопа MYscore 320M CCD.

Пробы для исследования с помощью сканирующего электронного микроскопа (Keyence VK-9700) готовились по методике Фоснера [1] в режиме сканирования лазером.

Для изготовления гистологических препаратов (жабры, печень, селезенка, почки, сердце) использовали методы, общепринятые в гистологии [10].

Химические анализы воды проведены по стандартной методике [12].

Результаты и обсуждение

Заболевание двухлеток карпа, выращиваемых в нагульных прудах, проявлялось в виде патологических изменений жаберного аппарата. По внешним признакам оно напоминало жаберный некроз. Гриб *Branchiomycetes sanguinis* при паразитологическом исследовании обнаружен не был.

Развитию болезни способствовал неблагоприятный гидрохимический режим в пруду. Соотношение рН пов. /рН дно находилось в интервале 1,1 и выше (1,13), что указывало на содержание кислорода у дна в пределах $1,0 \div 2,0$ мг/л. Температура воды колебалась в пределах $10 \div 12$ °С.

В пруд во 2-й декаде ноября подавалась свежая вода, однако, несмотря на это, в придонных слоях сохранились показатели перманганатной окисляемо-

сти (48 мг О/л), значительно превышающие показатели в поверхностных слоях (28,8 мг О/л).

Аммонийный азот присутствовал в концентрациях от $0,62 \div 0,8$ мг/л, что указывало на высокое содержание в водоеме органических веществ. Видимо, поступление свежей воды повысило концентрацию кислорода, и в водоеме начались процессы минерализации органического вещества, что подтверждают высокие показатели аммонийного азота ($0,62 \div 0,8$ мг/л).

Гибель карпов началась с нескольких экземпляров и достигла 50 кг в день в течение недели. Рыбы скапливались у водоподачи и держались у поверхности воды. Пораженные жабры были чаще мраморными, слегка отёчными, растрепанными, иногда частично разрушенными, покрытыми слизью (рис. 1а). Часто фрагменты жаберного эпителия отшелушивались (рис. 1б) вместе с одноклеточными круглыми или овальными образованиями.

При микроскопическом исследовании на живом материале и на срезах пораженных жабр карпов были обнаружены образования, не встречающиеся на жабрах здоровых рыб. В побелевших и отекающих концах жаберных лепестков находили большое количество мелких одноклеточных амeboидов, которые двигались (рис. 1). Они образовывали пальцевидные или сосочковидные псевдоподии, которые отходили от широких лопастей (при изучении живых амeboв). Исследования с помощью сканирующего электронного микроскопа (рис. 2) показали, что трофозоиты имеют большую длину, чем ширину.

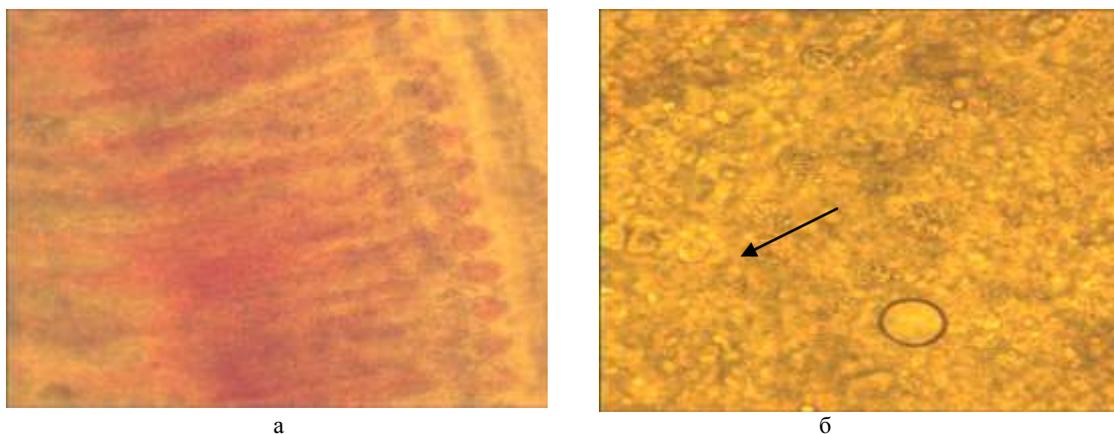


Рис. 1. Жабры больных карпов: а – гиперплазия жаберного эпителия ($\times 400$); б – зернистые амeboиды из жаберных лепестков больных карпов ($\times 480$)

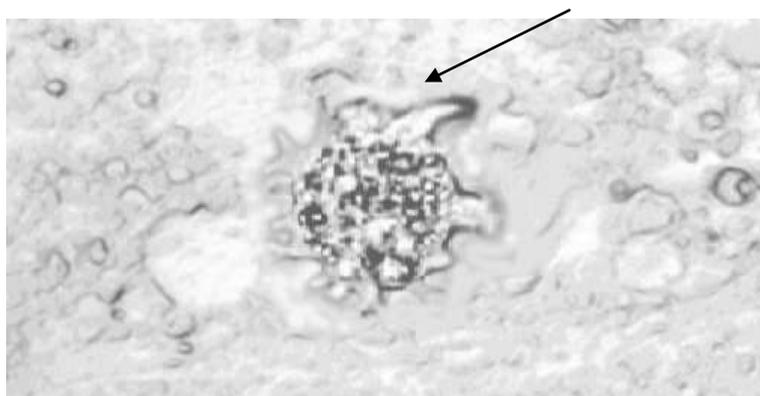


Рис. 2. *Mayorella sp.* с жабр карпа (сканирующий электронный микроскоп)

Плотная кутикула, размеры тела ($13 \div 26 \cdot 10^{-6}$ м), соотношение длины к ширине (1,0–2,4) и другие морфологические признаки позволяют отнести данный организм к роду *Mayorella* сем. Paramoebidae.

Кроме амeboидов, в пораженных жабрах карпов встречались одноклеточные округлые или овальные неподвижные образования, так называемые полиплоидные клетки диаметром от 30 до $85 \cdot 10^{-6}$ м.

Гистопатологические изменения в жабрах проявлялись в виде гиперплазии и гипертрофии жаберного эпителия.

Большинство жаберных лепестков имело на своих верхушках опухоли, обладающие неоднородной структурой. Часть из них с однородной структурой состояла из мелких плотно расположенных клеток. Для большей части жаберных лепестков (около 90 %) было характерно двустороннее разрастание многослойного плоского эпителия. При этом происходила изоляция большей части жаберных лепестков от внешней среды. Свободными оставались лишь их концы. На некоторых участках жаберных лепестков (на верхушках или реже в середине) отмечалось разрастание многослойного плоского эпителия. Данное образование имело вид «эпителиальных пластинок». Подобные изменения в строении жаберных лепестков приводят к нарушению функции газообмена, а затем к асфиксии.

Патологические изменения жаберных лепестков проявлялись в виде Г-образной формы, на их концах отмечалась гипертрофия респираторных эпителиоцитов. «Раздвоение» ламелл нередко сопровождалось «слипанием» концов, а также некрозом мышечной и хрящевой ткани. Отмечено большое количество клеток слизи.

Помимо морфофункциональных нарушений в жабрах регистрировались образования, похожие на амeboидов. Одни – удлиненной овальной формы с уплотненной оболочкой и плотной, ярко окрашенной цитоплазмой. Другие – округлой формы с прозрачной цитоплазмой, средней плотности оболочкой и хорошо различимыми органеллами. Также были обнаружены очень крупные новообразования, одетые толстой оболочкой и содержащие конгломераты.

Гистологические исследования внутренних органов рыб не выявили присутствия амeboй.

Сведения о влиянии амeboй на здоровье рыб, выращиваемых в аквакультуре России, весьма ограничены. Впервые на юге России было зарегистрировано заболевание карпов, вызванное представителями сем. Paramoebidae, род *Mayorella*. Последние широко распространены как в морских, так и пресноводных экосистемах [8].

Наиболее часто гибель рыб вызывали в аквакультуре свободноживущие амeboй [13]. Одной из причин массового развития амeboй является повышенное содержание органических веществ в воде, что в свою очередь стимулирует развитие бактерий, которыми и питаются амeboй.

По литературным данным [14, 15], некоторые виды амeboй могут вызывать такие заболевания, как вторичная инвазия. Многие виды амeboй являются свободноживущими организмами и становятся инвазионными вследствие условий среды, неблагоприятных для выращивания рыб.

Таким образом, гибель рыб в прудах в данном случае могла быть следствием неблагоприятных условий выращивания, в первую очередь органического загрязнения воды, что подтверждают данные гидрохимического анализа и массового развития амeboй как вторичного фактора, вызывавшего гибель рыб.

Литература

1. Woo P.T.K. Fish Diseases and Disorders: Protozoan and Metazoan Infections. Guelph, Canada, 2006. 791 p.
2. Ахмеров А.Х. О природе бранхиомикоза рыб // Тез. докл. на совещании по болезням рыб, 22–27 марта 1957 г. Владивосток, 1957. С. 99–100.
3. Лопухина А.М. О природе жаберного заболевания карпов в прудовых хозяйствах северо-запада РСФСР // Материалы симп. по паразитам и болезням рыб. М.; Л., 1966. С. 144–145.
4. Rogers W.A., Gaines J.L.Jr. Lesions of protozoan diseases in fish // The Pathology of Fishes. Madison, Wisconsin, 1975. P. 117–141.
5. Nash G., Nash M., Schlotfeldt H.J. Systemic amoebiasis in cultured European catfish, *Silurus glanis* L // J. of Fish Diseases. Vol. 11. 1988. P. 57–71.
6. Zilberg D., Munday B.L. Pathology of experimental amoebic gill disease in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and the effect of pre-maintenance in seawater // J. of Fish Diseases. 2000. Vol. 23. P. 401–407.
7. Определитель паразитов пресноводных рыб / под ред. О.Н. Бауера. Л., 1984. Т. 1. 430 с.
8. Протисты: руководство по зоологии. Ч. 1. СПб., 2000. 679 с.
9. Быховская-Павловская И.Е. Паразиты рыб: руководство по изучению. М., 1985. 121 с.
10. Лабораторный практикум по болезням рыб / под ред. В.А. Мусселиус. М., 1983. 296 с.
11. Foissner W. Basic light and scanning electron microscopic methods for taxonomic studies of ciliated Protozoa // European J. of Protistology. 1991. № 27. P. 13–330.
12. Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб. Ч. 2. М., 1999. 234 с.
13. Dyková I., Figueras A., Peric Z. Neoparamoeba: light and electron microscopic observations on six strains of different origin // Disease of Aquatic Organisms. 2000. № 43. P. 217–223.
14. Bullock G., Herman R., Heinen J., Noble A., Hankins J. Observation on the occurrence of bacterial gill disease and amoeba gill infestation in rainbow trout cultured in a water recirculating system // J. of Aquatic Animal Health. 1994. Vol. 6. P. 310–317.
15. Noble A.C., Herman R.L., Noga E.J., Bullock G.L. Recurrent amoebic gill infestation in rainbow trout cultured in a semiclosed water recirculation system // J. of Aquatic Animal Health. 1997. Vol. 9. P. 64–69.