

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ

**ФГБОУ ВО «КАЛИНИНГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**ФГБОУ ВО «САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ГЕНЕТИКИ, БИОТЕХНОЛОГИИ И ИНЖЕНЕРИИ
ИМЕНИ Н.И. ВАВИЛОВА»**

**VII Национальная
научно-практическая конференция**

**СОСТОЯНИЕ И ПУТИ РАЗВИТИЯ АКВАКУЛЬТУРЫ
В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

Петропавловск-Камчатский, 5-8 октября 2022 г.

УДК 639.3:639.5
ББК 47.2
С 23

Редакционная коллегия:
Поддубная И.В., Руднева О.Н., Кузнецов М.Ю., Гуркина О.А.

С 23 Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации: материалы VII национальной научно-практической конференции, Петропавловск-Камчатский, 5-8 октября 2022 г. / под ред. И.В.Поддубной; Вавиловский университет. – Саратов: Амирит, 2022. – 218 с.

ISBN 978-5-00207-102-9

В сборнике материалов VII национальной научно-практической конференции приводятся результаты исследования по актуальным проблемам аквакультуры, в рамках решения вопросов продовольственной безопасности, ресурсосберегающих технологий производства рыбной продукции и импортозамещения. Для научных и практических работников, аспирантов и обучающихся по укрупненной группе специальностей и направлений подготовки 35.00.00 сельское, лесное и рыбное хозяйство.

Статьи даны в авторской редакции в соответствии с представленным оригинал-макетом.

Сборник подготовлен и издан при финансовой поддержке
ООО «Прометрика»
Генеральный директор Резепова Анна Владимировна

УДК 639.3:639.5
ББК 47.2

ISBN 978-5-00207-102-9

© ФГБОУ ВО Саратовский государственный университет
генетики, биотехнологии
и инженерии имени Н.И. Вавилова, 2022

Методические подходы к диагностике болезней культивируемых черноморских рыб, вызываемых жгутиконосцами

Вячеслав Николаевич Мальцев

Отдел «Керченский» Азово-Черноморского филиала ФГБНУ «ВНИРО»,
г.Керчь

Аннотация. Эктопаразитические жгутиконосцы рода *Ichthyobodo* (=Costia) - возбудители ихтиободоза (костиоза), динофлагелляты *Amyloodinium ocellatum* - возбудители амилоодиниоза, экто- и эндопаразитические жгутиконосцы родов *Cryptobia* и *Trypanoplasma* – возбудители криптобиозов, а также гексамиты из рода *Hexamita* (=Spironucleus) имеют большое практическое значение при промышленном разведении морских рыб, в том числе кефалевых и камбалообразных. В статье приведены краткие описания этих болезней и общепринятые методы их диагностики. Показано, что стандартное лабораторное оборудование, используемое для паразитологических исследований рыб, и светооптические методы диагностики пригодны для качественных исследований паразитических жгутиконосцев морских рыб, постановки предварительных и окончательных диагнозов их болезней, определения возбудителей на видовом, родовом или семейственном уровнях.

Ключевые слова: костиоз, амилоодиниоз, криптобиозы, гексамитоз, кефалевые и камбалообразные рыбы, Черное море

Methodological approaches to the diagnosis of diseases of cultivated Black Sea fish caused by flagellates

Vyacheslav' N. Maltsev

Department "Kerch" of the Azov-Black Sea branch of the VNIRO Federal State Budgetary Institution, Kerch

Abstract. Ectoparasitic flagellates of the genus *Ichthyobodo* (=Costia) - the causative agents of ichthyobodosis (costiosis), dinoflagellates of *Amyloodinium ocellatum* - pathogens for amyloodiniosis, ecto- and endoparasitic flagellates of the genera *Cryptobia* and *Trypanoplasma* – pathogens for cryptobiosis, as well as hexamites from the genus *Hexamita* (=Spironucleus) have the great practical importance at industrial cultivation of the marine fishes, including mugilids and flatfishes. Brief descriptions of these diseases and generally accepted methods of their diagnosis are given in the article. It was shown that standard laboratory equipment used for parasitological studies of fish and light-optical diagnostic methods are suitable for qualitative studies of parasitic flagellates of marine fish. They are suitable for reliable preliminary and final diagnosis of the diseases and determination of their causative agents at levels of the species, genera or family.

Keywords: costiosis, amyloodiniosis, cryptobiosis, hexamitosis, mullet and flatfish, Black Sea

Актуальность. Перспективными объектами морской аквакультуры в Черном море являются кефалевые (*Mugilidae*) и камбалообразные (*Pleuronectiformes*) рыбы, выращивание которых планируется в нагульных (лагунных), прудовых, бассейновых и садковых морских хозяйствах [14]. Отечественные биотехнологии искусственного воспроизводства этих рыб позволяют планировать строительство в Крыму 2-х питомников мощностью до 14 млн. шт. жизнестойкой молодежи пиленгаса (*Liza haematocheilus*), камбалы калкан (*Scophthalmus maeoticus*), камбалы глоссы (*Platichthys flesus*) в год; прогнозируемые годовые объемы товарной продукции морских рыбоводных хозяйств Крыма могут достигать 1,5-2,0 тыс. тонн. В контексте этих задач важным является обеспечение эпизоотического благополучия морского рыбоводства в черноморском регионе, для чего в России, к сожалению, ветеринарное законодательство пока не разработано [12]. У кефалевых и камбалообразных рыб в различных регионах Мира известны паразитарные болезни, вызываемые жгутиконосцами [18, 26, 28]. В Азовском и Черном морях перечень зарегистрированных паразитических жгутиконосцев сравнительно мал [3], что может быть обусловлено как общим низким фаунистическим разнообразием этого моря, так и недостаточной изученностью этой группы паразитов в этом регионе. Обобщение научных данных о болезнях кефалевых и камбалообразных рыб, вызываемых паразитическими жгутиконосцами, а также апробация методов их диагностики выполнены нами по заказу Федерального агентства по рыболовству РФ; государственная работа № 076-00005-20 ПР (подтема 27.2).

Материал и методика. Научную литературу анализировали с использованием сети Интернет, предоставляющей удаленный доступ к реферативным базам данных Scopus, Web Science, Pro Quest, а также к полнотекстовым источникам информации Google Академия, Wiley Online Library, ScienceDirect, к которым сотрудники ФГБНУ «ВНИРО» и его филиалов были доступны в рамках национальной подписки. В ходе подготовки рукописи отчета по госзаданию изучено более 80 источников, из которых в Список источников вошли 65 работ (на русском языке – 20 (30,1%), на английском – 45 (69,2,8%); монографий и диссертаций - 13; методических руководств и нормативов – 9; научных статей - 35; тезисов – 5). Из них 13 работ (20,0 %) опубликованы в течение последних десяти лет. Лишь часть из этих публикаций приведена в списке литературы к этой статье. В течение 2017-2021 гг. ихтиопатологически исследованы кефалевые и камбалообразные рыбы, содержащиеся на научно-исследовательской базе (НИБ) «Заветное» (Крым, Ленинский район), а также рыбы из диких популяций (Азовское море). Аналитические и камеральные работы выполнены в секторе ихтиопатологии отдела «Керченский» (бывший ЮгНИРО) (г. Керчь, Крым). Используемое лабораторное оборудование соответствовало научным рекомендациям, а также нормативным требованиям к изучению паразитарных болезней рыб [8]. Таксономический статус жгутиконосцев устанавливали с использованием

«Определителя паразитов пресноводных рыб фауны СССР» [10], «Определителя паразитов позвоночных Черного и Азовского морей» [9] и других научных источников [20]. Светооптические методы диагностики жгутиконосцев рыб апробированы нами согласно отечественным методическим руководствам [1, 2, 5]. Эти классические методы являются общепринятыми в мировой ихтиопатологической практике [24].

Результаты исследований. Проанализированные нами научные данные показали, что эктопаразитические жгутиконосцы рода *Ichthyobodo* (= *Costia*) - возбудители ихтиободоза (костиоза), динофлагелляты *Amyloodinium ocellatum* - возбудители амилоодиниоза, экто- и эндопаразитические жгутиконосцы родов *Cryptobia* и *Trypanoplasma* – возбудители криптобиозов, а также гексамиты из рода *Hexamita* (= *Spiroucleus*) имеют большое практическое значение при промышленном культивировании морских рыб, в том числе они опасны для кефалевых и камбалообразных, обитающих в Азовском и Черном морях.

Костиозом (ихтиободозом) болеют многие пресноводные и морские рыбы; молодь в питомниках более восприимчива к этой инвазии; иногда поражается икра рыб. Болезнь регистрировали при содержании кефалей в бассейнах у побережья Черного моря [4]. На жабрах молоди и взрослых пиленгасов *Ichthyobodo necator* (= *Costia necatrix*) неоднократно обнаруживали в Азовском море и Керченском проливе [11, 21]. У камбалообразных *I. necator* многократно, в том числе с высокой интенсивностью, регистрировали на жабрах камбалы глоссы и калкана в Азовском море [22, 23]. Этот паразит упоминался как патогенный вид при разведении камбалы калкан у турецкого черноморского побережья [31]. Клинические и патолого-анатомические признаки костиоза морских и пресноводных рыб примерно одинаковы. Заболевшие рыбы становятся истощенными, вялыми, собираются в районе водоподачи с расширенными жаберными крышками, иногда трутся о стенки бассейнов. Жабры больных рыб бледнеют, распухают, обильно покрываются слизью; на гистологических препаратах больных рыб обнаруживается слияние их вторичных жаберных лепестков (пластинок). Дыхательная функция жабр нарушается. На коже больных рыб иногда образуются беловатые (серые) пятна слизи, которые могут покрывать всю поверхность тела. Плавники бывают частично разрушены. У заболевших рыб повреждения кожи могут приводить к нарушению осморегуляции. Показатели смертности у культивируемой молоди достигает 40-73 %; взрослые рыбы обычно не болеют; по-видимому, они, приобретают иммунитет, и становятся резервуарами (носителями) этой инвазии. Предварительный диагноз на костиоз ставят на основании обнаружения у рыб описанных выше эпизоотических, клинических и патологоанатомических признаков болезни, однако они не являются специфичными для данного заболевания (не патогномоничны). Окончательный диагноз ставят по результатам лабораторных исследований свежих и (или) фиксированных мазков слизи, взятых с тела и жабр больных рыб. Свежие мазки лучше изучать методом фазового контраста, позволяющим детально рассмотреть строение живых жгутиконосцев. Мазки подсушивают, а затем фиксируют метиловым спиртом (5-10 мин.), либо смесью этилового спирта и

диэтилового эфира (1:1) (15-20 мин.), после чего их окрашивают гематологическим красителем азур-эозином по Романовскому согласно инструкции изготовителя (например, 10-30 мин.; точное время окраски подбирают экспериментально) [2, 5 и др.]. Микроскопирование мазков вначале выполняют на малых и средних увеличениях (100-400 х), а затем на большом увеличении 1000 х с иммерсией; делают морфометрические промеры обнаруженных жгутиконосцев, выполняют их таксономическую идентификацию при помощи определителей. У костий должны быть измерены общая длина и ширина тела, длина и ширина ядра, длины жгутиков и другие видимые таксономические признаки. В Черном море сейчас известен только один вид костий (ихтиобод) – *I. necator*. Эти жгутиконосцы не свежих препаратах чаще подвижны (совершают характерное прерывистое движение), имеют грушевидное или овальное тело размером 10 х 5 мкм с небольшой вогнутостью с брюшной стороны, сбоку оно клиновидное; два направленных назад жгутика немного отличаются по длине. Недалеко от начала жгутиков обнаруживается небольшая сократительная вакуоль. Центральное расположенное ядро овальной формы диаметром около 2,5 мкм, и содержит внутри ядрышки. Прикрепленные питающиеся формы *I. necator* имеют строение тела, отличающее от свободноживущих форм паразита [20]. Абсолютные размеры живых и фиксированных жгутиконосцев могут немного отличаться. Наши исследования показали высокую чувствительность прижизненной диагностики *I. necator* на свежих мазках, где этот паразит обнаруживается даже с минимальной интенсивностью инвазии. Для точной идентификации костий необходимо исследовать свежую рыбу с высокой интенсивностью инвазии жгутиконосцами, что позволяет изучить большее число паразитов. Обнаружение во время вспышки заболевания на свежих или фиксированных мазках большого количества жгутиконосцев *I. necator* (от 10 до 100 экз. на увеличении 400 х) является положительным результатом лабораторного тестирования на костиоз. Этот диагноз является окончательным, и служит основанием для начала лечебных и противозпизоотических мероприятий в неблагополучном хозяйстве.

Амилоодиниоз (вельветовая, бархатная болезнь) не является специфичным заболеванием той или иной группы рыб; к ней восприимчив широкий спектр солоноватоводных тропических и субтропических рыб, в том числе кефалевые и камбалообразные. Амилоодиниозом болеют как дикие, так и культивируемые рыбы. Заболевшие рыбы держатся у поверхности воды, перестают питаться, интенсивно дышат, иногда демонстрируя признаки потери координации. Внешние (клинические) признаки болезни либо отсутствуют, либо на поверхности кожи, на глазах и на жабрах образуются серые и (или) геморрагические пятна. Кожа сильно зараженных рыб в некоторых случаях становится похожей на вельветовую (бархатистую) ткань. Зараженные жабры в отраженном свете выглядят покрытыми белой сыпью. При высокой интенсивности инвазии жабр (десятки трофонтов) у рыб формируется тяжелая форма жаберной гиперплазии, некроз жабр и геморрагии на них, приводящие к дыхательной недостаточности. Известны случаи заражения не только молоди

рыб, но и личинок. Течение болезни острое или хроническое. Болезнь может развиваться очень быстро, например, гибель может наступить в течение 12 часов после заражения. Высокая инвазированность амилоодиниумами культивируемых рыб (до 200 трофонтов на жаберной дуге) приводит к высокой их смертности (до 100 %). Амилоодиниоз наносит существенные ущербы морским хозяйствам, выращивающим лаврака (*Dicentrarchus labrax*), дорадо (золотистого спара) (*Sparus aurata*), сериолы (*Seriola dumerili*), зубарика (*Puntazzo puntazzo*), зубана (*Dentex dentex*) в Средиземном и Эгейском морях [25]. Сильные патологии жаберного эпителия, вызванные *A. ocellatum*, обнаруживались у лобана (*Mugil cephalus*) при его прудовом выращивании в Корее [29], а также у кефали на Филиппинах [15]. У камбалообразных рыб этот паразит вызывал значительные повреждения эпителия жабр, приводящие к массовой гибели маточных стад паралихта (*Paralichthys dentatus*) [19, 32]. Летом 2019 г. впервые в Черном море нами зарегистрирована вспышка этого заболевания на НИБ «Заветное» (Крым) среди рыб маточного стада пиленгаса и подращиваемой молодежи черноморского калкана; высокая зараженность жабр рыб трофонтами амилоодиниумов ассоциировалась с ее массовой гибелью [6]. Предварительный диагноз на амилоодиниоз ставят на основании обнаружения у рыб описанных выше клинических, патологоанатомических и эпизоотических признаков болезни, однако они не являются патогномоничными. Диагноз подтверждают лабораторными исследованиями свежих или фиксированных мазков слизи, которые берут с поврежденных участков тела и жабр больных рыб. Для прижизненных исследований слизь тонким слоем наносят на чистое предметное стекло, которое накрывают покровным стеклом и исследуют на малых и средних увеличениях микроскопа (100-400 х). На свежих мазках обнаруживаются неподвижные грушевидные или овальные трофонты *A. ocellatum* размером от 30 до 150 мкм (иногда до 350 мкм); на просвете они имеют коричневую или золотистую окраску, а в отраженном свете - белые или желтоватые. Наши исследования показали высокую чувствительность прижизненной диагностики амилоодиниумов на свежих мазках, где они обнаруживаются даже с минимальной интенсивностью инвазии (единичные экземпляры), и легко распознаются. Изготавливать окрашенные мазки и гистологические срезы имеет смысл только при высокой интенсивности инвазии этим паразитом; это позволяет на массовом материале детально изучить морфологию жгутиконосца и оценить его патогенное воздействие на хозяина. Фиксацию и окрашивание мазков выполняют по той же методике, что и для костииоза (см. выше). На окрашенных мазках делают морфометрические промеры паразитов и выполняют их таксономическую идентификацию с помощью определителей. В некоторых случаях выполняют гистологические исследования пораженных тканей рыб. Для гистологических исследований у больных рыб вырезают участки жабр и кожи, имеющие внешние признаки поражения, размером не более 5 мм³. Подготовка тканей рыб к гистологическим исследованиям включает стандартную последовательность действий, а именно их фиксацию, обезвоживание, пропитывание и заливку в парафин, изготовление тканевых срезов, их окрашивание гематоксилин-

эозином и монтирование препаратов [13]. Окрашенные срезы при их микроскопировании позволяют обнаружить на них клеточные структуры хозяина и паразита, распознать патологии как на тканевом, так и на клеточном уровнях. На гистологических срезах *A. ocellatum* имеет примерно такие же или чуть меньшие размеры, чем на свежих препаратах; обнаруживается округлое ядро диаметром около 16 мкм; периферическая цитоплазма имеет рыхлый вид; в ней располагаются многочисленные зерна крахмала; иногда паразит имеет прикрепительный аппарат в форме ризоидов, проникающих в прилежащие ткани хозяина. Выявление во время вспышки заболевания на свежих или фиксированных мазках или гистологических срезах большого количества паразитов *A. ocellatum* (от 5 до 20 экз. на увеличении 400 х; до 200 трофонтов на жаберную дугу) является положительным результатом тестирования на амилоидиоз. Этот диагноз является окончательным, и служит основанием для начала лечебных и противоэпизоотических мероприятий в неблагополучном хозяйстве.

Криптобиозы более изучены у лососевых рыб, а также известны у кефалевых и камбалообразных. Так, *Cryptobia branchialis* регистрировалась на жабрах лобана, сингиля (*Liza aurata*), остроноса (*Liza saliens*) и пиленгаса в черноморских лиманах Одесской области [7]. В 2000-х годах на жабрах сингиля и пиленгаса в районе Керченского пролива изредка обнаруживались *Cryptobia* sp. (Мальцев В.Н., не опубликованные данные). *C. branchialis* является патогеном лаврака и дорадо при их разведении в Средиземном море. При жаберном криптобиозе у рыб отмечается разрушение жаберного эпителия, его гиперплазия, тромбоз, у рыб развивается респираторная недостаточность, их тело темнеет. Болезнь передается от рыбы к рыбе. Ее течение может быть острым или хроническим; при смертности около 0,5 % в сутки общие потери могут достигать 10 % в течение нескольких недель. Кровяной криптобиоз, вызываемый *Cryptobia salmositica*, регистрируется у культивируемых в Средиземном море тихоокеанских лососей (род *Oncorhynchus*), лаврака и дорадо [16]. У заболевших рыб развивается анорексия, истощение, сильная анемия, на коже появляется обильная слизь, происходит слияние жаберных лепестков, образуются локальные жаберные кровоизлияния. Системная инвазия может приводить к повреждению кровяных сосудов, отеку органов, асциты, увеличению селезенки и к экзофтальмии [17, 24, 34]. Кровяные криптобиозы часто протекают хронически; сильнее болеет подращиваемая молодь. Суточные показатели смертности рыб, обычно, не высокие (около 0,5 %). Однако из-за того, что болезнь протекает длительное время, кумулятивные показатели смертности могут быть значительными. При остром течении кровяного криптобиоза, вызываемого *C. salmositica*, смертность рыб достигает 100 %. *Cryptobia (Trypanoplasma) bullocki* является кровяным паразитом летней камбалы (паралихта), вызывая у производителей анемию; эти жгутиконосцы могут инвазировать кишечник камбал, иногда приводя к его выпячиванию (выпадению) наружу. Предварительный диагноз на криптобиозы ставят на основании обнаружения у рыб описанных выше клинических, патологоанатомических и эпизоотических признаков болезней, однако нужно

иметь в виду, что они не являются специфичными для данного заболевания. Рыб в лабораторию доставляют только в живом состоянии, чтобы не допустить свёртывания у них крови. Кровь от больных рыб отбирают пипеткой из жаберной артерии, из сердца, шприцем из хвостовой артерии, или отсечением хвостового стебля. Окончательный диагноз ставят по результатам лабораторных микроскопических исследований свежих или фиксированных мазков крови и жаберной слизи. Свежие мазки лучше исследовать методом фазового контраста, позволяющим быстро и детально рассмотреть строение живых криптобий. Фиксацию и окрашивание мазков выполняют по той же методике, что и для костииоза (см. выше). На свежих и окрашенных мазках на малых и средних увеличениях микроскопа (100-400 х), а также на увеличении 1000 х с иммерсией делают морфометрические промеры паразитов, выполняют их таксономическую идентификацию с помощью определителей. У криптобий измеряют общую длину и ширину тела, размеры ядра, длины жгутиков, отмечают другие таксономически значимые признаки. При кровяном криптобиозе, вызываемом *S. salmositica*, на препаратах (мазки с жабр или крови) обнаруживают простейших длиной 6-25 мкм, шириной 1,2-7 мкм; с 2 жгутиками различной длины, из которых один свободный, обычно направленный вперед длиной 15 мкм, а другой – назад длиной 9 мкм; он имеет неразвитую или слабо развитую ундулирующую мембрану; живые паразиты имеют серповидную форму тела, демонстрируют амебоидное движение тела. При жаберном криптобиозе, вызываемом *S. branchialis*, в слизи с жабр обнаруживают жгутиконосцев длиной 12-22, шириной 3,5-4,4 мкм, ундулирующая мембрана у них отсутствует. Кинетопласт хорошо заметен, эллипсоидной или веретеновидной формы. В районе жгутикового кармашка (углубления) имеется сократительная вакуоль. Задний жгутик прилипает к поверхности клетки вдоль волнистой линии; его свободный конец имеет примерно ту же длину, что и передний жгутик. Передняя часть тела занята пищеварительной вакуолью [20]. Наши исследования показали высокую чувствительность прижизненной диагностики криптобий на свежих мазках, где они обнаруживаются даже с минимальной интенсивностью инвазии. Для их точной таксономической идентификации желательно исследовать свежую рыбу с высокой интенсивностью инвазии этими жгутиконсцами, что позволяет изготовить окрашенные препараты с высокой диагностической информативностью. Обнаружение во время вспышки заболевания на свежих или фиксированных мазках большого количества криптобий (более 5-10 экз. в поле зрения на увеличении 400 х) является положительным результатом тестирования на криптобиоз. Этот диагноз является окончательным, и служит основанием для начала лечебных и противоэпизоотических мероприятий в неблагополучном хозяйстве.

Гексамитоз (спиронуклеоз) не является специфичным заболеванием определенной группы рыб. Его возбудители - жгутиконосцы семейства Hexamitidae, обнаруживались в Северной Америке, Европе и Азии у представителей таких семейств рыб как осетровые (Acipenseridae), угревые (Anguillidae), чукучановые (Catostomidae), центарховые (Centrarchidae),

цихлидовые (Cichlidae), карповые (Cyprinidae), карпозубовые (Cyprinodontidae), тресковые (Gadidae), колюшковые (Gasterosteidae), кефалевые (Mugilidae), перцихтовые (Percichthyidae), окуневые (Percidae), лососевые (Salmonidae), сигановые (Siganidae), спаровые (Sparidae) [30]. Наибольшее практическое значение это заболевание имеет при разведении и содержании в искусственных условиях лососевых и декоративных аквариумных рыб, тогда как у диких рыб оно встречается редко. Заболевшие системным гексамитозом лососевые рыбы плохо потребляют корм, становятся вялыми и истощенными, окраска их тела делается тусклой или темной, брюшко раздувается. Отмечается хроническая смертность рыб; за длительный период болезни она достигает 20-40 %. У заболевших декоративных аквариумных рыб на коже образуются характерные повреждения в виде небольших ямок; отмечается недомогание, плохой рост и гибель молоди. Гексамиты (*Hexamita* sp.) обнаруживались в кишечниках у сеголетов кефалевых рыб (лобана, сингиля, остроноса и др.) в Красном и Средиземном морях; интенсивность инвазии ими была низкой и не приводила к системному поражению зараженных рыб. Предполагалась потенциальная патогенность гексамит при культивировании кефалевых рыб [27, 28]. В феврале-марте 2021 года впервые в Азово-Черноморском бассейне нами зарегистрирована вспышка этого заболевания на НИБ «Заветное» (Крым) у годовиков пиленгаса. У больных рыб обнаружена высокая интенсивность инвазии гексамитами (тысячи экз.), которые локализовались в кишечнике, желчном пузыре, а также в почке и на их жабрах (=системная инвазия) при хронически протекающей гибели рыб. У погибших пиленгасов отмечено характерное для гексамитоза истощение тела, являющееся следствием поражения кишечника и длительного голодания рыб [6]. Лабораторные методы диагностики гексамитозов рыб аналогичны таковым при других болезнях, вызываемых жгутиконосцами (см. выше). Исследуют свежие мазки и водные вытяжки из кишечника, почек, жабр и других органов рыб. Обнаружение во время вспышки заболевания на свежих или фиксированных мазках большого количества гексамит (от 5 до 10 и более экз. на увеличении 400 х) является положительным результатом лабораторного тестирования. Фиксацию и окрашивание мазков выполняют по той же методике, что и для кистиоза (см. выше). На свежих или окрашенных мазках делают морфометрические промеры жгутиконсцев и выполняют их таксономическую идентификацию с помощью определителей. На светооптическом уровне невозможно осуществить точное видовое или родовое определение гексамит [33]. Однако положительный диагноз на уровне семейства (Hexamitidae) является достаточным основанием для начала лечебных и противоэпизоотических мероприятий в неблагополучном хозяйстве.

Выводы. Результаты наших исследований показывают потенциальную опасность кистиоза (ихтиободоза), амиллодиниоза, криптобиозов, гексамитоза (спиرونуклеоза) для промышленного культивирования кефалевых и камбалообразных рыб в Черном море, которое планируется. Обнаружение нами новых для Азово-Черноморского региона болезней рыб, вызываемых жгутиконосцами (амиллодиниоза и гексамитоза), указывает на недостаточную

изученность подобных заболеваний в исследуемом регионе, и демонстрирует необходимости продолжить научные работы в этом направлении. Проведенные нами исследования показали, что прижизненные методы диагностики жгутиконосцев обладают высокой чувствительностью, но пониженной специфичностью. Для точной таксономической идентификации патогенных жгутиконосцев желательно прижизненные методы исследований совмещать с изучением их фиксированных окрашенных препаратов и гистологических срезов. Диагностику исследуемых заболеваний удобнее выполнять в рыбоводных хозяйствах, где имеется возможность регистрировать клинические, патолого-анатомические и эпизоотические их признаки прежде, чем приступить к лабораторным тестированиям. В диких популяциях рыб клиническая диагностика затруднительна. Стандартное лабораторное оборудование, используемое для паразитологических исследований рыб, и общепринятые светооптические методы пригодны для качественных исследований паразитических жгутиконосцев морских рыб, постановки предварительных и окончательных диагнозов их болезней, определения возбудителей на видовом, родовом или семейственном уровнях. Светооптические методы хорошо подходят для рутинных диагностических исследований рыб. Они могут использоваться для оперативной оценки состояния рыб при вспышке заболевания, при карантинировании рыб, при эпизоотическом мониторинге хозяйств (регионов) с целью ранней диагностики, а также для эпизоотического зонирования (районирования) акваторий. Молекулярно-генетические методы диагностики жгутиконосцев (полимеразная цепная реакция (ПЦР), секвенирование и другие) целесообразно применять лишь в том случае, если в регионе (хозяйстве) болезнь выявлена впервые, и требуется однозначное её научное подтверждение. Своевременная и точная диагностика болезней морских рыб описанными выше методами позволяет своевременно начать их лечение, разработать противоэпизоотические меры контроля, предотвратить вспышки болезней, уменьшить возможные потери, чем обеспечивает стабильные условия для работы морских рыбоводных хозяйств в Черном море.

Список источников

1. Бауер О. Н., Мусселиус В. А., Стрелков Ю. А. Болезни прудовых рыб. – М. Легкая и пищевая промышленность, 1981. – 320 с.
2. Быховская - Павловская И. Е. Паразиты рыб. Руководство по изучению. Л.: Наука, 1985. - 121 с.
3. Гаевская А. В. Паразиты и болезни рыб Черного и Азовского морей: I – морские, солоноватоводные и проходные рыбы. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2012. - 380 с.
4. Корягина Т. А. Ихтиободоз (костиоз) морских рыб // Тезисы докладов IX Всесоюзного совещания по паразитам и болезням рыб. (Петрозаводск, март, 1991 г.). – Ленинград, 1990. – С. 56.

5. Лабораторный практикум по болезням рыб / Мусселиус В. А., Ванятинский В. Ф., Вихман А. А. и др. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. – 296 с.
6. Мальцев В. Н. Опасные болезни культивируемых черноморских рыб, вызываемые жгутиконосцами // Тезисы докладов международной научной конференции, посвящённой 150-летию Севастопольской биологической станции - Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского и 45-летию НИС «Профессор Водяницкий» «Изучение водных и наземных экосистем: история и современность», 13–18 сентября 2021 г. Севастополь, Россия. – Севастополь, ФИЦ ИнБЮМ, 2021. – С. 593-594.
7. Мошу А., Воля Е. Материалы к фауне протопаразитов (Protista) черноморских кефалей (Mugilidae) // Управление бассейном трансграничной реки Днестр и водная рамочная директива Европейского Союза: Мат. междунар. конф., Кишинев, 2-3 окт. 2008. - Chisinau: Eco-TIRAS, 2008. - С. 202-204.
8. 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)
9. Определитель паразитов позвоночных Чёрного и Азовского морей. - Киев: Наукова думка, 1975. - 552 с.
10. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны ССР. Т. 1. - Л.: Наука. – 1984. 428 с.
11. Сарабеев В. Л. Паразити піленгаса та місцевих видів риб у північно-західній частині Азовського моря (фауна, екологія). Автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.18 / Сарабеев Володимир Леонідович. – Київ, 2000. – 20 с.
12. Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб. Часть 1. – М.: Отдел маркетинга АМБ-агро, 1998. – 310 с.
13. Роскин Г. И., Левинсон Л. Б. Микроскопическая техника. - М.: Советская наука, 1957. – 467 с.
14. Шекк П. В., Куликова Н. И. Марикультура рыб и перспективы ее в черноморском бассейне // Монография. – К.: КНТ, 2005. – 308 с.
15. Baticados M. C. L., Quintio G. F. Occurrence and pathology of an Amyloodinium-like protozoan parasite on gills of grey mullet, *Mugil cephalus* // Helgoländer Meeresuntersuchungen. – 1984. – 37 (1/4). – P. 595-601.
16. Bruno D. W., Alderman D. J., Schlotfeldt H. J. What should I do? A practical guide for marine fish farmer. – Published the European Association of Fish Pathologists, 1999. – 60 p.
17. Buchmann K. Impact and control of protozoan parasites in maricultured fishes //Parasitology. – 2015. – V. 142. – №. 1. – P. 168-177.
18. Diseases of mariculture finfish species: a review / Saravanan K., Nilavan S. E., Sudhagar S. A., Naveenchandru V. // The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh, IJA_65.2013.831. – 2013. – Vol. 65. – 14 pp.

19. Hughes K. P., Smith S. A. Common and emerging diseases in commercially-cultured summer flounder, *Paralichthys dentatus* // Journal of Applied Aquaculture. – 2003. – Vol. 14. – P. 163–178.
20. Lom J., Dykova I. Protozoan parasites of fishes. Developments in Aquaculture and Fisheries Science. - Elsevier Amsterdam - London-New York – Tokyo. – 1992. – 26. – 315 p.
21. Maltsev V. N. Results of parasitological researches of mullet fishes in the Kerch Strait region (Azov and Black Sea basin) // Fifth International Symposium on Aquatic Animal Health (September 2-6, 2006. San Francisco, California, USA). Program and Abstracts. – P. 175.
22. Maltsev V. Features of parasite infestation of turbot (*Psetta maxima torosa*) in the Azov Sea ecosystem // 13th International EAAP Conference on Fish and Shellfish Diseases (17-21 September 2007, Grado, Italy). Abstract book. – P. 229.
23. Maltsev V. Features of parasite infestation of flounder (*Platichthys flesus luscus*) in the Azov Sea ecosystem // Program and Abstract Book. X European Multicolloquium of Parasitology (24-29 August 2008, Paris). – P. 158.
24. Noga E. J. Fish diseases. Diagnosis and treatment. 2nd ed. - Wiley-Blackwell Publishing, 2010. – 519 p.
25. Noga E. J., Levy M. G. Phylum Dinoflagellata. In: Fish Diseases and Disorders, Vol. 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections, 2nd edition. Woo P.T.K., eds. - London, UK: CABI, 2006. – P. 16–45.
26. Noga E. J., Smith S. A., Ottesen O. H. Disease diagnosis and Treatment / Daniels H. V., Watanabe W. O. (Eds). Practical Flatfish Culture and Stock Enhancement. - Blackwell Publishing, 2010. – P. 259-284.
27. Paperna I., Gonzalez F. M. Check of diseases, microbial and parasitic pathogens diagnosed from cultured marine fish in the Mediterranean. Studies and Reviews - General Fisheries Council for the Mediterranean (FAO). no. 57. – 1980. – P. 11-27.
28. Paperna I., Overstreet R. Parasites and diseases of mullets (Mugilidae) // Aquaculture of Grey Mulletts / Oren O. H. (ed.). – Cambridge University Press, Cambridge, 1981. – P. 411-493.
29. Park S. W., Yu J. H., Lee C. H. *Amyloodinium* sp. infestation in mullet (*Mugil cephalus*) cultured in a pond on land // Journal of fish pathology. – 2006. – Vol. 19, iss. 1. – P. 7–15.
30. Poynton S. L. Diplomonad (hexamitid) flagellates: Diplomonadiasis, Hexamitosis, Spirotrichiosis // AFS - FHS (American Fisheries Society - Fish Health Section), FHS Blue Book: Suggested Procedures for the Detection and Identification of Certain Finfish and Shellfish Pathogens, 2014 ed. [Электронный ресурс]. – URL: <https://units.fisheries.org/fhs/wp-content/uploads/sites/30/2017/08/3.2.2-Diplomonad-Flagellates-2014.pdf> (дата обращения 21.01.2020).
31. Rapid diagnosis for kalkan (*Psetta maxima*) diseases / Sakai M., Itami T. (ed.). – 3rd edition. – Flatfish Culture Project. Special Publication 5, December, 2011. – 17 p.

32. Smith S. A., Schwarz M. H. Getting acquainted with *Amyloodinium ocellatum* // CFAST Virginia Cooperative Extension Publication, 2019. [Электронный ресурс]. – URL: [https://www.pubs.ext.vt.edu/content/dam/pubs_ext_vt_edu/600/600-200/600-200\(CNRE-39P\).pdf](https://www.pubs.ext.vt.edu/content/dam/pubs_ext_vt_edu/600/600-200/600-200(CNRE-39P).pdf) (дата обращения 21.01.2021).

33. Spironucleus species: economically-important fish pathogens and enigmatic single-celled eukaryotes / Williams C. F., Lloyd D., Poynton S. L., Jorgensen A., Millet C. O. M., Cable J. // J. Aquac. Res. Development. - 2011. - S2. – 13 p.

34. Woo P. T. K. *Cryptobia (Trypanoplasma) salmositica* and salmonid cryptobiosis // Journal of fish diseases. – 2003. – V. 26. – №. 11-12. – P. 627-646.

© Мальцев В.Н., 2022