

1 213
МИНИСТЕРСТВО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА СССР
ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ПРУДОВОГО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА (ВНИИПРХ)

На правах рукописи

ЛАРЦЕВА Любовь Владимировна

УДК 597-12:639.3.04(639.371.1+ 639.371.2)

**ПРОФИЛАКТИКА И ТЕРАПИЯ САПРОЛЕГНИОЗА
ИКРЫ ОСЕТРОВЫХ И БЕЛОРЫБИЦЫ ПРИ
ИСКУССТВЕННОМ ИХ РАЗВЕДЕНИИ**

Специальность 03.00.19-паразитология
03.00.10-ихтиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

к
Москва-1987

МИНИСТЕРСТВО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА СССР
ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ПРУДОВОГО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА (ВНИИПРХ)

На правах рукописи

Ларцева Любовь Владимировна

УДК 597-12:639.3.04
(639.371.1+639.371.2)

ПРОФИЛАКТИКА И ТЕРАПИЯ САПРОЛЕГНИОЗА ИКРЫ
ОСЕТРОВЫХ И БЕЛОРЫБИЦ ПРИ ИСКУССТВЕННОМ
ИХ РАЗВЕДЕНИИ

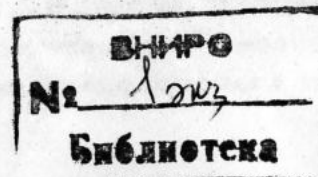
Специальность 03.00.10 - ихтиология

03.00.19 - паразитология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва - 1987



Работа выполнена в Каспийском научно-исследовательском институте рыбного хозяйства (КаспНИРХ).

Научный руководитель - доктор биологических наук,
профессор Дудка И.А.

Научный консультант - кандидат биологических наук, старший
научный сотрудник Алтуфьев Д.В.

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор Мусселлус В.А.
кандидат биологических наук Власенко А.Д.

Ведущее предприятие - БелНПО рыбного хозяйства

Защита состоится "10" Июль 1987 г.

в "14⁰⁰" час. на заседании специализированного совета

Д II7.04.01 при Всесоюзном научно-исследовательском институте
прудового рыбного хозяйства по адресу: I4182I, Московская обл.,
Дмитровский р-н, пос. Рыбное, ВНИИПРХ.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Всесоюзного
научно-исследовательского института прудового рыбного хозяйства.

Автореферат разослан "30" Июль 1987 г.

Ученый секретарь специализированного
совета, кандидат биологических наук

Тряпкина С.П.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В "Основных направлениях экономического и социального развития СССР на 1986-1990 и на период до 2000 года" записано: "Необходимо довести производство пищевой рыбной продукции до 4,4-4,6 млн тонн. Увеличить поставку живой охлажденной рыбы, балычных, копченых и вяленых изделий. Расширить работы по созданию прудовых рыбоводных хозяйств, повсеместно использовать их для снабжения населения живой и охлажденной рыбой". В связи с этим заданием перед рыбной промышленностью и рыбоводами Астраханской области, которая является основной базой промышленного воспроизводства осетровых и белорыбницы, стоит проблема увеличения продукции из этих ценных пород рыб. Решение этой проблемы позволит внести существенный вклад в выполнение Продовольственной Программы.

В технологии разведения осетровых и белорыбницы одним из главных звеньев является заводской метод получения потомства, от эффективности которого зависит успех воспроизводства этих ценнейших видов рыб. Во время заводской инкубации икры осетровых и белорыбницы сапролегниевые грибы, обитающие в воде как сапротрофы, находятся в тесном контакте с ней и при определенных условиях проявляют себя как патогены, переходя к паразитизму на икре. Ряд технологических процессов (осеменение, обесклеивание) травмирует икру, способствуя возникновению заболевания - сапролегниоза, следствием которого являются ее сверхнормативные отходы.

В отношении сапролегниевых грибов - возбудителей сапролегниоза дельта реки Волги к началу исследований оставалась мало изученной. Ограниченные сведения о нахождении этих грибов в воде р. Волги (Милько, 1968; Домашова, 1971; Воронин, 1983) не связаны с заболеваниями рыб и икры. Данные о видовом составе сапролегниевых грибов, поражающих икру осетровых и белорыбницы, отсутствуют. В

литературе нет сведений, касающихся патогенеза икры этих рыб при поражении их указанными грибами, что создает трудности для профилактики и терапии сапролегниоза. До настоящего времени для икры белорыбцы не были подобраны химиопрепараты, а в борьбе с сапролегниозом икры осетровых применяли дефицитный малахитовый зеленый, который по литературным данным (Steffens, 1962; Waxten, 1980; Alderman, 1985; Глаголева, 1968), является токсичным веществом. В связи с этим по просьбе промышленности остро встал вопрос о его замене другим, безвредным препаратом.

Необходимость детального изучения видового состава и биологии сапролегниевых грибов - возбудителей сапролегниоза для последующей разработки мер борьбы с этим заболеванием определяет актуальность данной работы.

Цель и задачи исследования. Цель данного исследования была определена как изучение причин и условий возникновения сапролегниоза на икре осетровых и белорыбцы, а также разработка мер борьбы с этим заболеванием.

В связи с этим были поставлены следующие задачи:

1. Изучить видовой состав сапролегниевых грибов, поражающих икру осетровых и белорыбцы.
2. Выяснить патогенность доминирующих видов сапролегниевых грибов для икры осетровых и белорыбцы.
3. Изучить влияние абиотических и биотических факторов среды на интенсивность развития грибов - возбудителей сапролегниоза.
4. Отработать и предложить промышленности эффективный препарат для профилактики и терапии сапролегниоза икры осетровых и белорыбцы.

Научная новизна работы. На основании детальных микологических исследований впервые выделено из пораженной икры осетровых и

белорыбцы, а также из воды инкубационных аппаратов и водоисточников на рыбоводных заводах Астраханской области 19 видов сапролегниевых грибов из класса *Ooizetes*. Установлены пределы экологических факторов (рН среды, температуры воды и содержания в ней кислорода), при которых отмечено максимальное развитие сапролегниевых грибов в конкретных условиях обследованных рыбоводных заводов. Показано, что определенные сочетания значений этих факторов среды, влияя на грибы и стимулируя интенсивность их развития, обуславливают возникновение сапролегниоза. Выявлена различная устойчивость икры белуги, осетра, севрюги и белорыбцы к этому микозу. Впервые экспериментально доказана патогенность доминирующих в условиях рыбоводных заводов Астраханской области видов сапролегниевых грибов для развивающейся икры осетровых и белорыбцы. Изучен патогенез сапролегниоза икры этих видов рыб; установлены сроки появления первых признаков заболевания. Выявлены ранее неизвестные различия в поражении икры осетровых и белорыбцы сапролегниевыми грибами. Изучена фунгицидная активность химиопрепарата основного фиолетового "К" по отношению к доминирующим видам сапролегниевых грибов.

Практическая значимость работы состоит в разработке и внедрении в практику рыбоводства фунгицидного препарата фиолетового "К" в борьбе с сапролегниозом икры осетровых и белорыбцы на всех рыбоводных заводах Астраханской области. Этот препарат безвреден, доступен в употреблении и значительно дешевле ранее применявшейся малахитовой зелени. Результаты проведенных работ показали его целесообразность применения для профилактики и терапии сапролегниоза икры белорыбцы в концентрации 5 мг/л, а для икры осетровых в концентрации 10 мг/л.

Апробация работы. Результаты исследований докладывались на

семинаре ихтиопатологов (Астрахань, 1979), на заседаниях отдела микологии института ботаники им. Н.Г. Холодного АН УССР (Киев, 1983; 1984), на Всесоюзном совещании "Интенсификация прудового рыбоводства" (Рыбное, 1984), на VIII Всесоюзном совещании по паразитам и болезням рыб (Астрахань, 1985), на V Всесоюзном симпозиуме по инфекционным болезням рыб (Москва, 1986). Материалы диссертации докладывались на Ученом совете КаспНИРХ.

Публикация результатов исследования. Основные положения диссертационной работы опубликованы в II статьях и "Временном наставлении по применению основного фиолетового "К" против сапролегниоза икры белорыбца и осетровых рыб".

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 5 глав, заключения, практических рекомендаций, списка литературы и приложения общим объемом на 159 страницах, иллюстративный материал представлен 19 таблицами и 40 рисунками. Список литературы состоит из 213 источников, из которых 111 иностранных.

Основой для написания настоящей работы послужили исследования, проведенные нами в 1978-1985 г.г. под руководством доктора биологических наук, профессора И.А. Дудки и кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника Ю.В. Алтуфьева.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение. Во введении обсуждается актуальность темы, определены цель и задачи исследования.

Глава I. Обзор литературы

Глава II. Материал и методы исследований. Работа выполнена в период 1978-1985 годы в лаборатории ихтиопатологии КаспНИРХ, на Александровском, Бертыльском и Кизанском рыбоводных заводах Астра-

ханской области. Материалом для исследований служили: икра трех видов осетровых (белуга, осетр, севрюга) и икра одного вида лососевых рыб (белорыбца), а также вода инкубационных аппаратов и водоисточников. Всего было собрано и обработано 500 микологических проб. Параллельно со сбором последних регистрировали температуру и pH воды, а также содержание в ней кислорода.

Для сбора, выделения и культивирования грибов, изолированных из пораженной икры и проб воды использовали методы, применяемые для изучения водных оомицетов (Флоринская, 1969; 1971; Литвинов, Дудка, 1975; Артемчук, 1981). Идентификацию грибов осуществляли по монографиям К. Сейпа (Sejpa, 1959) и Р. Сеймура (Seymour, 1970), учитывая при этом данные работ А.А. Флоринской (1968; 1969; 1971) и А.А. Милько (1979; 1982; 1983).

Искусственное воспроизведение сапролегниоза икры осетровых и белорыбца проводили по методу Р. Сриваставы (Srivastava, 1980). Для определения первых признаков заболевания и изучения патогенеза осуществляли просмотры и фиксацию материала из опыта и контроля через 8, 12, 15, 18, 24, 30 и 35 часов по икре севрюги и через 12, 18, 24, 30, 36, 48, 52, 62 и 70 часов по икре белорыбца.

Патоморфологические исследования при изучении патогенеза сапролегниоза проводили по общепринятым гистологическим методам (Ромейс, 1954; Меркулов, 1969). Для выявления гиф грибов в пораженной икре осуществляли окраску срезов по трехцветному методу Маллори (Ромейс, 1954) и по Гридди (Бауер и др., 1981).

Для изучения фунгицидных свойств основного фиолетового "К" и его концентраций, подавляющих рост и развитие сапролегниевых грибов, выделенных из пораженной икры осетровых и белорыбца, был применен метод, предложенный Т. Байли (Bailey, 1983) и

P. Sati (Sati ,1983).

Для профилактики и терапии сапролегниоза икры осетровых и белорыбцы испытывали фунгицидный препарат основной фиолетовой "К" непосредственно на рыбоводных заводах с использованием инкубационных аппаратов Вейса и Дженко. В борьбе с сапролегниозом икры белорыбцы испытывали фиолетовый "К" в концентрации 5 мг/л, с экспозицией 30 минут. Этот же препарат был апробирован с той же целью на икре осетровых в концентрации 2,5; 3,5; 5,0; 7,0; 10,0 мг/л для икры белуги; 3,0; 5,0; 7,0; 10,0 мг/л для икры осетра; 1,5; 3,0; 5,0; 7,0; 10,0; 15,0 и 20,0 мг/л для икры севрюги, с экспозицией 30 минут. Конечный результат лечебно-профилактической обработки икры осетровых и белорыбцы определяли по выходу личинок в опыте и контроле, количеству икры, пораженной сапролегниозом и по патологии эмбриогенеза.

Глава III. Сапролегниевые грибы, выделенные из воды, икры осетровых и белорыбцы; их патогенность и эпизоотическое значение

Из воды инкубационных аппаратов, водосточников, пораженной икры осетровых и белорыбцы выделено 19 видов сапролегниевых грибов, относящихся к пяти родам: *Saprolegnia*, *Achlya*, *Aphanomyces*, *Leptolegnia* и *Dictyuchus*.

По классификации Г.Ц. Айнсворта (Ainsworth ,1973) сапролегниевые грибы принадлежат к царству грибов (Fungi), отделу *Eumycota* , классу *Oomycetes* , порядку *Saprolegniales*, семейству *Saprolegniaceae*.

Приведены диагнозы выделенных грибов с указанием частоты встречаемости каждого вида в пробах воды и на икре обследованных рыб. Для каждого вида представлены диапазоны температуры, активной реакции воды и содержания растворенного кислорода, при которых он был выделен. Особое внимание уделено морфологии половых

органов грибов и сопоставлению полученных данных с приведенными другими авторами (Флоринская, 1968; 1969; 1971; Милько, 1979; 1982; 1983; Сејр ,1959; Seymour ,1970), поскольку форма и размеры оогониев и ооспор являются ведущими критериями при идентификации вида. Кроме того, для всех обнаруженных видов грибов даны сведения об их патогенности для рыб и икры по данным литературы.

Род *SAPROLEGNIA*

S. parasitica - по числу изолятов была доминирующим видом среди грибов, выделенных из пораженной икры осетровых и белорыбцы (47 изолятов), а также из проб воды (26 изолятов) во все периоды сбора материала. Выделялась при температуре воды от 0,1 до 23,0°C; pH=7,0-8,3; O₂=8,0-14,5 мг/л.

По литературным данным (Neish ,1976; Srivastava ,1976; Neish , Hughes ,1980; Флоринская, 1969; 1971; Ларцева и др., 1984) патогенна для рыб и икры.

S. ferax - выделяли из пораженной икры осетровых (31 изолят) и воды (15 изолятов) в весенне-летний период. Осенью (в ноябре) была найдена один раз на пораженной икре белорыбцы и дражды - в пробах воды. Выделялась при температуре воды от 1,4 до 22,5°C; pH=7,4-8,3; O₂=8,0-14,0 мг/л.

По литературным данным (Srivastava ,1976; Neish , Hughes ,1980; Флоринская, 1969; 1971; Ларцева и др., 1984) патогенна для рыб и икры.

Остальные виды рода *Saprolegnia* были представлены меньшим числом изолятов. Соответственно, *S. mixta* - 5 изолятами на икре осетровых; *S. delicata* - 3 изолятами на икре осетровых; *S. declinata* - 7 изолятами на икре осетровых и 1 изолятом на икре белорыбцы; *S. monoica* - 2 изолятами на икре осетровых; *S. monoica* var. *glomerata* - 1 изолятом на икре осетровых;

S. hurogyna - 3 изолятами на икре осетровых; *S. litoralis* - 2 изолятами на икре осетровых; *Saprolegnia* sp. - 15 изолятами на икре осетровых и 5 изолятами на икре белорыбцы.

Род *ACHLYA*

Achlya sp. - часто выделяли из пораженной икры осетровых (20 изолятов), икры белорыбцы (16 изолятов), а также из проб воды (19 изолятов) во время инкубации икры осетровых и белорыбцы на протяжении всего периода исследований. Выделялась при температуре воды от 0,1 до 22,5°C; pH=7,0-8,3; O₂=8,0-14,5 мг/л.

По литературным данным (Jha, Seth, Srivastava, 1977; Neish, Hughes, 1980) патогенна для рыб и икры.

Остальные виды рода *Achlya* представлены единичными изолятами, выделенными из икры осетровых и белорыбцы, соответственно, *A. bisexualis* - 5 изолятами на икре белорыбцы и 2 изолятами на икре осетровых; *A. hurogyna* - 5 изолятами на икре белорыбцы; *A. flagellata* - 4 изолятами на икре осетровых и 2 изолятами на икре белорыбцы; *A. klebsiana* - по 1 изоляту на икре осетровых и белорыбцы; *A. debariana* - 1 изолятом, выделенным из проб воды во время инкубации икры осетровых.

Род *DICTYUCHUS*

D. monovogus - часто выделялся из пораженной икры белорыбцы (17 изолятов), икры осетровых (7 изолятов) и из проб воды (20 изолятов) во время инкубации икры осетровых и белорыбцы на протяжении всего периода исследований. Выделялся при температуре воды от 0,1 до 23,0°C; pH=7,0-8,2; O₂=8,0-14,5 мг/л.

По литературным данным (Noland - Tintigner, 1974; Neish, Hughes, 1980; Флоринская, 1969; 1971; Ларцева, Дудка, 1985) патогенен для рыб и икры.

Род *APHANOMYCES*

Aph. laevis - изолировали из пораженной икры белорыбцы (10 изолятов), икры осетровых (5 изолятов), а также из проб воды (14 изолятов) во все периоды сбора материала. Выделялся при температуре воды от 0,1 до 23,0°C; pH=7,0-8,2; O₂=8,0-14,5 мг/л.

По литературным данным (Srivastava, 1976; 1979; Neish, Hughes, 1980; Флоринская, 1969; 1971) патогенен для рыб и икры.

Род *LEPTOLEGNIA*

L. caudata представлена 3 изолятами, выделенными из пораженной икры осетровых и 1 изолятом - из проб воды в весенний период. Выделялась при температуре воды от 10,2 до 18,0°C; pH=7,8-8,3; O₂=8,2-11,8 мг/л.

По литературным данным (Neish, Hughes, 1980; Флоринская, 1969; 1971) патогенна для рыб и икры.

Патогенность доминировавших при сапролегниозе икры осетровых *S. parasitica* и *S. ferox* для осемененной икры севрюги доказана по триаде Коха чистыми культурами этих видов грибов.

В опыте, проведенном при температуре воды 20-22°C, первые признаки поражения у икры, инфицированной *S. parasitica*, были отмечены через 18 часов, а у икры, инфицированной *S. ferox*, через 24 часа после инокуляции. Морфологические картины пораженной икры показали разрыхленность поверхности студенистой оболочки, деструкцию желточных оболочек, исчезновение границ между ними и инвазивность их гифами грибов. Через 35 часов вся опытная икра, инфицированная *S. parasitica* и *S. ferox*, была поражена этими грибами и погибла.

В опыте с теми же двумя видами грибов на осемененной икре севрюги, проведенном при температуре воды 17-18°C, первые признаки поражения были выявлены через 24 часа после инокуляции.

Поражение шло равномерно и к 30 часам 80% опытной икры было поражено *S. parasitica* и *S. ferox*. Изменения в морфологии оболочек пораженной икры соответствовали таковым первого опыта. Контрольная икра в обоих вариантах опыта до конца наблюдений нормально развивалась без признаков патологии.

По завершении опытов из пораженной икры были выделены виды грибов, которыми проводилось заражение. Выполненные постулаты Коха дают основание считать *S. parasitica* и *S. ferox* возбудителями сапролегниоза икры осетровых на рыбных заводах Астраханской области.

Патогенность доминировавшего при сапролегниозе икры белорыбца *D. monosporus* для осеменной икры белорыбца доказана по триаде Коха чистой культурой указанного гриба.

В опыте, проведенном при температуре воды 5-6°C, первые признаки поражения были выявлены через 52 часа. Патоморфологические картины пораженной икры показали разрыхленность поверхности внешней, лизис и инвазивность обеих оболочек гифами испытуемого гриба. Кроме того, отмечена инвазия грибом не только оболочек икры, но и ее желтка.

Опыт, проведенный при температуре воды 2-3°C с тем же видом гриба, позволил установить первые признаки поражения через 70 часов, а через 92 часа после экспериментального инфицирования вся опытная икра была поражена грибом. Контрольная партия икры в обоих вариантах опыта не имела признаков поражения до конца наблюдений. Клиническая картина и патогенез заболевания икры белорыбца соответствовали таковым первого опыта.

По окончании наблюдений из пораженной икры была выделена исходная культура *D. monosporus*. Выполненные постулаты Коха дают основание считать *D. monosporus* возбудителем сапролегниоза

за икры белорыбца на рыбных заводах Астраханской области.

Глава IV. Влияние экологических факторов на развитие сапролегниевых грибов в условиях искусственного воспроизводства осетровых и белорыбца

Сапролегниевые грибы являются постоянными компонентами гетеротрофного блока экосистемы различных водоемов. Обладая большим набором ферментов (Извекова, 1985), они могут участвовать не только в биологической минерализации органического вещества (Khulbe, 1981; Дудка, 1965; 1974; Михеева, 1969), но и паразитировать на рыбах и икре. При этом, грибы-паразиты находятся под двойным воздействием: во-первых, под непосредственным влиянием самого хозяина (в конкретном случае инкубируемой икры различного физиологического состояния), т.е. среды первого порядка, и, во-вторых, под влиянием водоема с его абиотическими факторами, т.е. среды второго порядка. В разные периоды инкубации икры осетровых и белорыбца видовой состав сапролегниевых грибов определяется комплексом экологических факторов: активной реакцией среды, содержанием кислорода в воде и ее температурой, которые обуславливают сезонную динамику грибов. Отмечено, что при pH 7,0 - 8,3, которая характерна для водоемов Астраханских осетровых рыбных заводов, наиболее часто выделялись *Saprolegnia parasitica*, *S. ferox*, *Saprolegnia* sp., *Achlya* sp., *Aphanopus laevis* и *Dic-tyuchus monosporus*, которые по литературным данным (Smith et al., 1984; Флоринская, 1971; Логвиненко, 1972; 1981) относятся к видам нейтрально-щелочной группы. Максимальное число видов и изолятов сапролегниевых грибов было выделено из исследованных биотопов при значениях pH от 7,7 до 8,1 (14 видов и 69 изолятов). При щелочных значениях pH от 8,2 до 8,3 отмечено снижение количества выделенных сапролегниевых грибов до 8 видов и 17 изолятов; при

нейтральных значениях pH от 7,0 до 7,6 - до 8 видов и 15 изолятов. Хотя диапазон значений pH среды в исследованных биотопах достаточно узкий, тем не менее он оказывает определенное влияние на колебания числа видов и изолятов сапролегниевых грибов нейтрально - щелочной группы, доминирующие в исследованных биотопах.

Содержание кислорода, растворенного в воде, является важным лимитирующим фактором, регулирующим численность сапролегниевых грибов (Флоринская, 1969; 1971; Логвиненко, 1972; Мещерякова, 1981; Khulbe, 1981). Грибы этой группы выделялись нами при содержании кислорода в воде от 8,0 до 14,5 мг/л, оптимальном для инкубации икры осетровых и белорыбцы. Весной, во время инкубации икры осетровых, при содержании кислорода в воде от 8,0 до 12,0 мг/л, преобладали виды рода *Saprolegnia* (6 видов и 18 изолятов). Осенью и зимой, во время инкубации икры белорыбцы, при содержании кислорода в воде от 12,2 до 14,5 мг/л, доминировали виды рода *Achlya* (5 видов и 17 изолятов), а также *Dictyuchus monosporus* (8 изолятов). *Aphanomusces laevis* развивался в воде равномерно при содержании кислорода в воде от 8,0 до 14,5 мг/л. Следовательно, изменения в содержании кислорода оказывают воздействие на видовой состав сапролегниевых грибов на рыбободных предприятиях дельты р. Волги, обуславливая преобладание в различные сезоны года представителей конкретных родов и видов грибов.

Существенную роль в развитии и распространении сапролегниевых грибов играет температура воды (Флоринская, 1969; 1971; Логвиненко, 1972; 1981; Мещерякова, 1981; Smith et al., 1984; Willoughby, Copland, 1984). Анализ нашего материала подтвердил значимость температурного фактора, как определяющего видовой и количественный состав сапролегниевых грибов в разные сезоны года.

В весенне - летний период (апрель - июнь), во время инкубации икры осетровых при температуре воды от 12,0 до 18,0°C отмечен максимум в развитии грибов рода *Saprolegnia* (7 видов и 17 изолятов). Осенью и зимой, при температуре воды от 2,0°C до 1,4°C и с понижением ее до 0,1-0,2°C, при инкубации икры белорыбцы, отмечен спад в развитии грибов рода *Saprolegnia* (2 вида и 3 изолята). В это же время доминировали виды рода *Achlya* (5 видов и 17 изолятов), а также *Dictyuchus monosporus* (8 изолятов). *Aphanomusces laevis* выделялся равномерно при температуре воды от 0,1 до 23,0°C, во время инкубации икры осетровых и белорыбцы.

Таким образом, максимум развития представителей конкретных родов и даже видов сапролегниевых грибов совпадает со временем инкубации икры осетровых (виды рода *Saprolegnia*) и началом инкубации икры белорыбцы (виды рода *Achlya*, *D. monosporus*).

Интенсивность развития грибов в значительной степени зависит от состояния самой инкубируемой икры, в частности, от такого качественного показателя, как процент ее оплодотворения. Степень восприимчивости икры к сапролегниозу определяется ее рыбободным качеством, которое зависит от физиологического состояния производителей осетровых и белорыбцы (Романов, Алтуфьев, 1981; Летичевский, 1983; Лукьяненко, 1984; Алтуфьев и др., 1984; 1986), а также от времени и места их заготовки.

Установлено, что на рыбободных заводах Астраханской области наиболее подвержена сапролегниозу икра севрugi, отходы которой при заболевании составляют 59-70% всей инкубируемой икры. Высказано предположение о связи высокой чувствительности икры севрugi к сапролегниозу с отмеченной ранее патологией гаметогенеза и значительной разнородностью функционального состояния производителей этого

вида (Алтуфьев и др., 1984; Шелухин, 1984), которые оказываются на рыбоводном качестве икры. Возбудителями сапролегниоза икры севрюги следует считать *S. parasitica* и *S. ferax*, что было доказано нами экспериментально. Вероятно, что и *S. mixta*, *S. diclina*, *A. flagellata*, *Aph. laevis* и *D. monosporus* могут быть возможными этиологическими агентами сапролегниоза икры севрюги, т.к. часто выделялись из пораженной икры в монокультуре и упоминаются в литературе как патогены икры и рыб.

Икра белуги и осетра более устойчива к этому микозу, вследствие достаточно высокого рыбоводного качества производителей, а, следовательно, и икры. Однако потери ее от сапролегниоза в процессе инкубации достигали 32-57% всей инкубируемой икры. Поскольку все выделенные нами из пораженной икры белуги и осетра грибы зарегистрированы в литературе как патогены, можно предположить, что они могут быть возбудителями сапролегниоза.

Икра белорыбицы особенно чувствительна к сапролегниозу в первый месяц инкубации. Отходы от этого заболевания по нашим наблюдениям достигали 40-66%, но иногда они могут составлять 76% от всей инкубируемой икры (Летичевский, 1983). Нами экспериментально доказано, что возбудителем сапролегниоза икры этого вида является *D. monosporus*. К вероятным этиологическим агентам микоза икры белорыбицы можно отнести *A. bisexualis*, *A. hurogyna*, *Aph. laevis*, поскольку они часто выделялись из пораженной икры в монокультуре и по литературным данным указываются как патогенные организмы для различных рыб и икры.

Глава V. Профилактика и терапия сапролегниоза икры белорыбицы и осетровых.

Для профилактики и терапии сапролегниоза икры изучаемых рыб был выбран фунгицидный препарат основной фиолетовой "К", впервые примененный в борьбе с ихтиофтириусом рыб (Мусселиус, Филиппова, 1968; 1969). Он безвреден, доступен в употреблении и в пять раз дешевле малахитовой зелени. При выборе и установке сроков лечебно-профилактических обработок икры фиолетовой "К" были учтены данные А.А. Домашовой (1967) и Л.Г. Карпусь (1967) о возможности обрабатывать икру осетровых химиопрепаратами только в устойчивые стадии эмбриогенеза, т.е. не ранее, чем на 15-17 стадии развития и только до стадии пульсации сердца (у белуги на 31; осетра - на 28-29; севрюги - на 28 стадии). Задача состояла в подборе концентраций фиолетовой "К", фунгицидных для грибов и в то же время не вызывающих патологии эмбриогенеза.

Результаты экспериментальных работ, производственных проверок и внедрений на рыбоводных заводах Астраханской области показали целесообразность лечебно-профилактической обработки икры фиолетовой "К" в концентрации 5 мг/л для икры белорыбицы и 10 мг/л для икры осетровых. Рекомендована и внедрена в производство схема обработки икры осетровых и белорыбицы. Установлены стадии эмбриогенеза, на которых следует проводить обработки: для икры белорыбицы - на второй день инкубации; затем на 5-ой; 6-7-ой и начальной стадии "глазка". Для икры белуги - на 16-17-ой; 22-23-ей и на 27-28 стадиях развития. Для икры осетра - на 16-ой и 22 стадиях развития. Для икры севрюги - на 16-17 и 26 стадиях развития. Экспозиция обработок 30 минут.

На основании проведенных исследований разработано "Временное наставление по применению основной фиолетовой "К" против сапро-

легниоза икры белорыбицы и осетровых рыб (утверждено Главветупром МСХ СССР от 26.12.85г.).

ВЫВОДЫ

1. Многолетними наблюдениями (1978-1985г.г.) за развитием икры осетровых и белорыбицы на рыбоводных заводах дельты Волги показано, что при заводском методе получения их потомства, который включает инкубацию икры в аппаратах Ищенко и Вейса, создаются условия, способствующие возникновению сапролегниоза икры. Это заболевание приводит к сверхнормативным отходам икры, составляющим в отдельные годы на обследованных рыбоводных заводах до 50% по икре осетровых и белорыбицы, что наносит серьезный ущерб воспроизводству этих ценнейших пород рыб.
2. Установлено, что возбудителями сапролегниоза икры осетровых и белорыбицы при искусственном их разведении являются сапролегниевые грибы - представители класса Oomycetes, порядка Saprolegniales, семейства Saprolegniaceae.

Из водоисточников, воды инкубационных аппаратов, пораженной икры осетровых и белорыбицы выделено 19 видов этих грибов, относящихся к 5 родам: Saprolegnia, Achlya, Aphanomyces, Leptolegnia и Dictyuchus. Род Saprolegnia представлен девятью видами и одной разновидностью: S. parasitica, S. ferax, S. delica, S. diclina, S. monoica, S. monoica var. glomerata, S. mixta, S. hypogyna, S. litoralis и Saprolegnia sp. Род Achlya - шесть видами: A. hypogyna, A. bisexualis, A. flagellata, A. klebsiana, A. debariana и Achlya sp; Роды Aphanomyces, Leptolegnia и Dictyuchus - каждый одним видом соответственно: Aph. laevis, L. caudata и D. monosporus.

rus.

3. Изучена этиологическая значимость доминирующих в низовьях реки Волги видов сапролегниевых грибов (Saprolegnia parasitica и S. ferax при сапролегниозе икры осетровых и Dictyuchus monosporus при сапролегниозе икры белорыбицы). Установлено значение отдельных экологических факторов среды (активной реакции воды, степени насыщения ее кислородом и температуры воды) для развития сапролегниевых грибов в трех основных биотопах - водоисточниках, воде инкубационных аппаратов, на пораженной икре осетровых и белорыбицы. Показано, что видовой и количественный состав грибов в указанных биотопах определяется комплексом этих факторов.
4. Наиболее важным фактором в развитии сапролегниевых грибов, определяющим их видовой и количественный состав в разные сезоны года, является температура воды. В весенне-летний период (апрель-июнь) во время инкубации икры осетровых при температуре воды от 12,2 до 18,0°C отмечен максимум в развитии грибов рода Saprolegnia (7 видов и 17 изолятов). При пониженных температурах воды (0,1-0,2°C) в зимний период, совпадающий с инкубацией икры белорыбицы, отмечен спад в количестве видов и изолятов этого рода (2 вида и 3 изолята). В это время часто выделяли изоляты Dictyuchus monosporus, Achlya hypogyna, A. bisexualis и Achlya sp. Aphanomyces laevis выделяли при температуре воды от 0,1 до 23,0°C во время инкубации икры как осетровых, так и белорыбицы.
5. На распределение видов сапролегниевых грибов по сезонам года влияет также степень насыщения воды кислородом. Во время инкубации икры осетровых (апрель-июнь), когда содержание кислорода в воде находилось в пределах от 8,0 до 12,0 мг/л, преобладали

грибы рода *Saprolegnia* (6 видов и 18 изолятов). В осенне-зимний период, во время инкубации икры белорыбцы, когда насыщение воды кислородом достигало 12,2-14,5 мг/л, доминировали грибы рода *Achlya* (5 видов и 17 изолятов). *Aphanopus laevis* и *Dictyuchus monosporus* были представлены значительным числом изолятов на протяжении всего периода сбора материала при содержании кислорода в воде от 8,0 до 14,5 мг/л.

6. Диапазон значений активной реакции воды (рН) в дельте р. Волги во время инкубации икры осетровых и белорыбцы составляет 7,0-8,3. Максимальное число видов и изолятов сапролегниевых грибов выделено из исследованных биотопов при значениях рН от 7,7 до 8,1 (14 видов и 69 изолятов). При щелочных значениях рН от 8,2 до 8,3 отмечено снижение количества грибов до 8 видов и 17 изолятов, а при нейтральных значениях рН от 7,0 до 7,6 - до 8 видов и 15 изолятов. Все обнаруженные виды грибов отнесены к группе нейтрально-щелочных. В наиболее широких пределах активной реакции воды (7,0-8,3) выявлены *Saprolegnia parasitica*, *S. ferax*, *Saprolegnia* sp., *Achlya* sp., *Aphanopus laevis* и *Dictyuchus monosporus*.
7. Температуры воды и степень насыщения ее кислородом, обеспечивающие интенсивное развитие сапролегниевых грибов, одновременно являются оптимальными и для инкубации икры осетровых и белорыбцы. Такое совпадение значений указанных факторов способствует возникновению сапролегниоза икры. Дополнительные очаги инфекции возникают в результате заиливания стенок инкубационных аппаратов и обилия в них органики (мертвой икры, планктона), где концентрируются зооспоры сапролегниевых грибов.
8. Степень восприимчивости икры к сапролегниозу непосредственно связана с ее рыбодородным качеством и физиологическим состоянием

производителей. Поражаемость икры севрюги по сравнению с икрой других представителей осетровых была более высокой. Отходы икры севрюги в условиях наших экспериментов составляли 59-70%. Икра белуги и осетра была подвержена сапролегниозу в меньшей степени, чем икра севрюги. Отходы икры белуги и осетра в условиях наших опытов составляли 32-57%. Учитывая, что периоды инкубации икры этих трех видов рыб совпадали с весенним пиком в развитии *Saprolegnia parasitica*, *S. ferax*, *S. mixta*, *S. diclina*, *Achlya flagellata*, *Aphanopus laevis* и *Dictyuchus monosporus*, высказано предположение о роли этих грибов как этиологических агентов сапролегниоза икры осетровых.

9. Икра белорыбцы в условиях наших экспериментов поражалась сапролегниозом с 40-66% - ным отходом. Установлено, что она наиболее подвержена этому заболеванию в первый месяц инкубации. Длительное резервирование производителей в бассейнах, вариабельность физиологического состояния и фертильности самок снижают рыбодородное качество икры и понижают ее устойчивость к сапролегниозу. Высказано предположение о роли *Saprolegnia parasitica*, *Achlya bisexualis*, *A. hypogyna* и *Aphanopus laevis* как этиологических агентов сапролегниоза икры белорыбцы.
10. Экспериментально доказано, что *S. parasitica* и *S. ferax* являются возбудителями сапролегниоза осемененной икры севрюги, а *D. monosporus* - икры белорыбцы. Воспроизведение заболевания проводилось чистыми культурами указанных видов грибов по триаде Коха. Отмечено, что при температуре воды 17-18°C икра севрюги поражается обоими видами испытываемых грибов через 24 часа. При температуре воды 20-22°C поражение *S. parasitica*

происходит через 18 часов, тогда как *S. ferax* - через 24 часа. Икра белорыбцы инфицируется *D. shopenoensis* при температуре воды 5-6°C через 52 часа, а при 2-3°C - через 70 часов.

- II. Гистологическими исследованиями показаны изменения структуры икры под воздействием сапролегниевых грибов. Они заключаются в разрыхленности поверхности оболочек икры севрюги и белорыбцы, их деструкции, вакуолизации, что является следствием инвазивности гиф и протеолитической активности грибов. У икры севрюги гифами грибов инвазируются только три ее оболочки, а у икры белорыбцы - и оболочки и внутреннее содержимое. Установлено, что сапролегниевые грибы поражают как неоплодотворенную, так и в значительной степени - живую развивающуюся икру. Это подтверждает необходимость проведения лечебно-профилактических мероприятий.
12. Рекомендована и внедрена в производство схема лечебно-профилактической обработки икры осетровых и белорыбцы препаратом органическим фиолетовым "К", применяемым в течение всего периода инкубации икры.

Для профилактики и терапии сапролегниоза икры белорыбцы рекомендована концентрация препарата 5 мг/л, а для икры осетровых - 10 мг/л. Установлены устойчивые стадии эмбриогенеза, на которых следует проводить лечебно-профилактические мероприятия: для икры белорыбцы - на второй день инкубации; затем на третьей, шестой-седьмой и начальной стадии "глазка" с месячным интервалом; для икры белуги - на 16, 22 и 28 стадиях развития с двухдневным интервалом; для икры осетра - на 16 и 22 стадиях развития с однодневным интервалом; для икры севрюги - на 16-17 и 26 стадиях развития с однодневным интервалом.

На основании выполненных работ разработано "Временное

наставление по применению основного фиолетового "К" против сапролегниоза икры белорыбцы и осетровых рыб (утверждено Главветупром МСХ СССР от 26.12.85г.).

По материалам диссертации опубликованы следующие работы:

1. Использование фиолетового "К" для профилактической обработки икры белорыбцы.-Информ. листок, № 198/82, Астрахань, ЦНТИ, 1982, с.1-2 (в соавторстве с Л.А. Зубковой, Г.А. Степановой),
2. Опыт борьбы с сапролегниозом при искусственном разведении белорыбцы.-Рыбное хоз-во, 1983, № 2, с.40 (в соавторстве с Т.В. Астаховой, Л.А. Зубковой, Г.А. Степановой).
3. Лечебно-профилактические мероприятия при сапролегниозе икры белорыбцы.-Рыбное хоз-во, 1984, № 5, с.41-42 (в соавторстве с Л.А. Зубковой, Г.А. Степановой).
4. Лечебно-профилактические мероприятия по борьбе с сапролегниозом икры осетровых в дельте р.Волги.-В кн.: Методы интенсификации пруд. рыб-ва: тез. докл. Всес. совещ. М., 1984, с.150-151 (в соавторстве с Л.А. Вьюшковой).
5. Патогенность сапролегниевых грибов для икры севрюги.-В кн.: Осетровое хоз-во СССР: тез. докл. Всес. совещ. Астрахань, 1984, с.181-182 (в соавторстве с Д.В. Алтуфьевым, А.В. Дубовской).
6. Профилактика сапролегниоза икры осетровых.-Информ. листок № 20/85, Астрахань, ЦНТИ, 1985, с. 1-2 (в соавторстве с Л.А. Зубковой, Л.А. Вьюшковой).
7. Сапролегниоз икры осетровых и меры борьбы с ним.-В кн.: УИИ Всес. совещ. по паразитам и болезням рыб. Астрахань, 1985, с. 51-52 (в соавторстве с Л.А.Зубковой, Д.В. Алтуфьевым, Г.А. Морозовой, А.Н. Забейворота).

8. Патогенез сапролегниоза икры севрыги в низовьях Волги.-
Экспресс-информация ЦНИИТЭИРХ, серия Рыбохоз. исп. внутр. во-
доемов. М., 1985, вып. 5, с. 4-7 (в соавторстве с Д.В. Алтуфье-
вым, А.В. Дубовской).
9. *Dictyuchus monosporus* Leitgeb - возбудитель сапролегниоза ик-
ры белорыбца.-Микология и фитопатология, 1985, т. 19, №6,
с. 469-471 (в соавторстве с И.А. Дудкой).
10. Сапролегниевые грибы на икре осетровых и лососевых.-Гидро-
биологический журнал, 1986, т. 22, №3, с. 103-107.
11. Фунгицидная эффективность основного фиолетового "К".-В кн.:
Профилактика, лечение и диагностика инфекционных болезней
рыб: тез. докл. У Всес. симпоз. по инфекц. болезням рыб, М.,
1986, с. 53.

