

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ИНСТИТУТ ОЗЕРНОГО И РЕЧНОГО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА  
973 0.1 (ГОСНИОРХ)

---

На правах рукописи

УДК 597.554.3.:597-169:576.893.1

ЧЕПУРНАЯ Алевтина Григорьевна

МИКОВОЛЕЗ ТОЛСТОЛОБЫКОВ

(БИОЛОГИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ, ЭПИЗООТОЛОГИЯ, ПРОФИЛАКТИКА)

Специальность 03.00.19 – Паразитология

А в т о р е ф е р а т

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Санкт-Петербург, 1994

Работа выполнена на кафедре рыбоводства  
Астраханского технического института  
рыбной промышленности и хозяйства (АТИРПИХ)

Научные руководители: доктор биологических наук,  
профессор

В.А.Мусселиус

кандидат биологических наук,  
старший научный сотрудник

О.Н.Кнчис

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,  
профессор

О.Н.Бауер

кандидат биологических наук

В.Н.Воронин

Ведущее учреждение: Каспийский научно-исследователь-  
ский институт рыбного хозяйства

Защита состоится "15" марта 1994 г. в 13ч

на заседании специализированного Совета К ИИ7.03.01  
при Государственном научно-исследовательском инсти-  
туте озерного и речного рыбного хозяйства по адресу:  
199053, г.Санкт-Петербург, наб.Макарова, 26

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке  
ГосНИОРХ

Автореферат разослан "25" сентября 1994 г.

Ученый секретарь специализи-  
рованного Совета, кандидат  
биологических наук

М.А.Дементьева

## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Одним из методов интенсификации рыбного хозяйства, способствующих повышению рыбопродуктивности водоемов, является акклиматизация ценных видов рыб. Такими видами являются растительноядные рыбы дальневосточного комплекса, вселенные в пруды и другие водоемы Европейской части России, а также в водоемы Украины, Казахстана, Узбекистана и других стран СНГ еще в 50-х годах.

Растительноядные рыбы — это рыбы низкого трофического уровня. Применение поликультуры растительноядных рыб позволяет утилизировать значительную часть первичной продукции, образующейся в водоемах, создавать выгодную в биоэнергетическом и хозяйственном отношении экосистему, в которой товарную продукцию получают уже на втором звене пищевой цепи (Виноградов, 1985).

Однако вселение растительноядных рыб в водоемы России и других стран СНГ породило целый ряд проблем, связанных с тем, что вместе с рыбами в новый ареал их обитания был завезен и целый ряд паразитов (Мусселиус, 1973). К числу таких паразитов относятся и микроспорей *Muxobolus pavlovskii* (Achmerov, 1954), специфичный паразит кабр белого *Hypophthalmichthys molitrix* и пестрого *Aristichthys nobilis* толстолобиков. В первые десять лет после интродукции растительноядных рыб *M. pavlovskii* в прудовых хозяйствах Западной и Восточной Европы встречался в незначительных количествах и не имел существенного эпизоотического значения. За последние 40 лет этот паразит расселился в водоемах России, Венгрии, Чехословакии, Германии и других стран, расположенных в разных климатических зонах, где происходит культивирование толстолобиков и в некоторых прудовых хозяйствах стал вызывать гибель рыб (Сапожников, 1975 и др.).

В конце 70-х годов *M. pavlovskii* был впервые зарегистрирован в Зональном рыбоинституте Астраханской области и стал быстро распространяться по другим хозяйствам дельты Волги.

Однако, несмотря на сравнительно частую встречаемость этого паразита в рыболовных хозяйствах страны, некоторые этапы его жизненного цикла продолжают оставаться малоизученными, что затрудняет разработку мер профилактики и борьбы с вызываемым им миксоболезном.

Цель и задачи работы. Целью нашего исследования явились изучение биологии *M. pavlovskii* и разработка мер профилактики болезни. При этом необходимо было решить следующие задачи:

- установить длительность жизненного цикла паразита;
- выяснить пути заражения толстолобиков и определить инвазионные качества спор паразита в зависимости от сроков пребывания их во внешней среде;
- изучить сезонную и возрастную динамику зараженности толстолобиков этим паразитом;
- изучить изменчивость некоторых морфологических признаков паразита в зависимости от вида толстолобиков, сезона и локализации паразита;
- изучить влияние паразита на организм хозяина;
- разработать рекомендации по профилактике миксоболеза толстолобиков.

Научная новизна. В результате проведенных исследований изучен жизненный цикл паразита. Выяснены сроки и пути заражения толстолобиков. Впервые установлено, что заражение паразитом может происходить через жабры. Определено инвазионное качество спор; установлено, что споры могут сохранять жизнеспособность в течение 3 месяцев. Впервые выяснено, что водные беспозвоночные могут элиминировать споры *M. pavlovskii*. Установлено, что

олигохеты не являются промежуточным хозяином *M. pavlovskii*, а играют роль транспортного хозяина. Впервые изучена изменчивость некоторых морфологических признаков паразита и установлено, что появление аномальных спор происходит в результате ухудшения физиологического состояния рыбы, за счет несбалансированного питания и неблагоприятных условий среды обитания. Установлены детальные дозы зараженности паразитом для личинок и сеголетков толстолобиков. Впервые изучено действие едкого натра на споры *M. pavlovskii*.

Практическое значение. Сведения по биологии паразита необходимы при оценке эпизоотической ситуации рыбоводных хозяйств. Положительный опыт применения едкого натра в качестве дезинфицирующего средства в борьбе с миксоблезом может быть использовано на рыбоводных хозяйствах. На основании проведенных исследований разработана "Временная инструкция по диагностике и ликвидации миксоблеза толстолобиков", которая внедрена на Чаганском рыбопитомнике Астрахань-Байкалхозсоюза.

Апробация работы. Основные положения и результаты диссертационной работы доложены на IX Всесоюзном съезждении по паразитам и болезням рыб (Петрозаводск, 1991), межлабораторных семинарах ихтипатологов ИНИИРХ, ГосНИОРХ и УкрНИИРХ (Ленинград, 1988; Рыбное, 1989, 1992), ежегодных конференциях профессорско-преподавательского состава АстрабВТУЗа (Астрахань, 1985-1992).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 работ.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, 7 глав, выводов, списка литературы и приложения. В рукописи 209 страниц машинописного текста, 30 таблиц, 45 рисунков. Список литературы включает перечень 127 работ на русском и 64 работы на иностранных языках.

## ГЛАВА I. СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ МИКСОСПОРЕЙ

### (Обзор литературы)

В главе приводятся данные по биологии, экологии миксоспорей в свете последних работ отечественных и зарубежных авторов. Особое внимание уделено изученности жизненного цикла миксоспорей и наиболее дискуссионному вопросу о путях заражения рыб миксоспорами. Приводятся литературные данные о наличии промежуточного хозяина в цикле развития миксоспорей и о паразито-хозяинных взаимоотношениях. При анализе состояния изученности миксоспорей *M. pavlovskii* у толстолобиков приводятся литературные данные о распространении, особенностях локализации, биологии паразита в разных климатических зонах. Отмечено, что биология миксоспорей *M. pavlovskii* ранее была недостаточно изучена, что обусловило необходимость проведения исследований в этом направлении.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Материалом для настоящей работы послужили результаты исследований, проведенных в 1984-1992 гг. в прудовых хозяйствах дельты Волги. Экспериментальные исследования по изучению биологии, жизненного цикла миксоспорей, также по разработке мер профилактики проведены на Чаганском рыбопитомнике. Основным объектом исследования служили белый и пестрый толстолобики и их гибриды. Исследования были подвергнуты все возрастные группы толстолобиков (от личинок до 6+) в течении всех сезонов года.

Сбор и обработка паразитологического материала проводилась по общепринятым методикам (Дюгель, 1933; Быховская-Павловская, 1985; Мусселиус и др., 1983).

Методом полного и неполного паразитологического вскрытия было исследовано 2887 экз. рыб. Проведено 8 серий экспериментов

в которых использовано 5000 экз. рыб (от личинок до I+).

Для изучения жизненного цикла паразита толстолобиков (от личинок до годошников) отсаживали в аквариумы, в инкубационные аппараты ИНИПРХ; кроме того опыты проводили в зимовальных прудах площадью I,4 га, где после зимовки рыбопосадочного материала (годошников) споры миксоспорей могли остаться на ложе пруда; для опытов использовали также пруды - нерестовики площадью 0,25 га и прединъекционные пруды площадью 0,01 га.

Длительность опытов по изучению жизненного цикла паразита составляла от 7 дней до 10,5 месяцев. Продолжительность опытов по изучению роли водных беспозвоночных в элиминации спор паразита, влиянию дезинфицирующих средств на споры составляла от нескольких минут до 1,5 - 2 месяцев.

Для наблюдения за характером распределения цист паразита на жабрах жаберную дугу разделили на три участка: основание жаберных лепестков; средняя часть; концы жаберных лепестков. Для наблюдения за сроком созревания паразита цисты разделили на три группы: "крупные", размером 300-500 мкм; "средние" - 200-300 мкм; "мелкие" - 100 - 200 мкм и менее.

При исследовании подсчитывали абсолютное количество цист на всех жаберных дугах с обеих сторон. Кроме того регистрировали количество цист на каждой жаберной дуге. С целью нахождения спор паразита исследовали кроме жабр другие органы: кишечник, сердце, селезенку, кожу, мышцы, кровь, почки.

Для изучения морфологии спор изготавливали глицерин-желатиновые препараты (Донец, Шульман, 1973). Для оценки достоверности различных размеров спор паразита в зависимости от сезона, топографии цист паразита использовали критерий Стьюдента (Ивантер, 1971; Лакин, 1973). Статистическую обработку материала осуществляли на ЭМ ЕС-1035.

Для определения сроков развития и режима хранения спор в течении года цисты миксоспорей после снятия с жабр сеголетков толстолобиков тщательно очищали от остатков жабр и собирали в эссенную и дисциллированную воду.

Заражение рыб проводили несколькими способами: подсаживали стерильных рыб к больным и выдерживали в течении нескольких месяцев; добавляли в аквариум взвесь свежих спор, собранных тут же с больных рыб; добавляли взвесь выдержанных спор (от нескольких месяцев до 2 лет) в воду к стерильным рыбам; выдерживали зоопланктон в суспензии спор совместно в течении нескольких часов и после этого скармливали толстолобикам; добавляли олигохет, выдержанных в суспензии спор к стерильным толстолобикам, тем самым проверяя возможность наличия промежуточных хозяев в стадии развития *M. pavlovskii*; добавляли олигохет, собранных с зараженного пруда; добавляли остатки жабр погибших после зимовки рыб, собранных с ложа пруда; добавляли грунт и воду из зараженного пруда; устанавливали в пруду садки со стерильными личинками. Об успешности заражения судили по результатам паразитологического исследования опытных рыб.

По ходу экспериментов проводили фиксацию опытных и контрольных рыб в нейтральном 10%-ном формалине для дальнейшей гистологической обработки по общепринятым методикам (Пирс, 1965). В качестве фиксатора плазмодиальных стадий паразита использовали жидкость Карнуа и в дальнейшем окрашивали препараты по Фельгену.

Гематологические исследования выполнялись по общепринятым методикам (Мусселиус и др., 1983).

Экспериментально в микроаквариумах, а также в прудах площадью 1,4 га проводили выяснение действия едкого натра и гипохлорита кальция на споры *M. pavlovskii*, а также на олигохет, которые в массе скапливаются в илистых отложениях прудов.

Для выяснения сроков заражения 2-3-х дневных стерильных личинок толстолобиков после 2,5,7,13,15,20 дней содержания в зимовальном пруду, где ранее зимовали годовики и ежегодно наблюдалось 100 % заражение их *M. pravlovskii* после чего их переводили в аквариумы. Наблюдения за сроками заражения проводилось параллельно ежедневно на личинках из зимовального пруда (по 20 экз.) и из каждого аквариума (по 10 экз.).

Гидрохимические и гидробиологические исследования проводили по общепринятым методикам.

### ГЛАВА 3. КРАТКАЯ ФИЗИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ, КЛИМАТИЧЕСКАЯ И ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАК- ТЕРИСТИКА ЧАГАНСКОГО РЫБОПИТОМНИКА.

Чаганский рыбопитомник расположен в 2 км западнее с. Чаган и в 25 км юго-восточнее г. Астрахани, на берегу р. Старая Волга.

Климат в этом районе умеренно-континентальный с холодной зимой и жарким летом. Продолжительность безморозного периода составляет в среднем 250 дней. вегетационный период со средне-зудочной температурой выше 10° начинается с середины апреля и продолжается до октября, составляя 180 суток.

Рыбопитомник расположен на пойменных, луговых, суглинистых, глинистых и иловых почвах разной степени засоления. Общая площадь прудов рыбопитомника 282,4 га, в котором выростные пруды составляют 218,5 га. Источником водоснабжения прудов является р. Старая Волга. Объектом выращивания являются карп, белый и пестрый толстолобик, белый амур. Рыбопитомник снабжает посадочным материалом колхозы Астраханской области. Личинок карпа и растительноядных рыб получают заводским методом. В виду отсутствия мальковых прудов, личинок растительноядных рыб подращивают

в течение двух недель в зимовальных прудах, что является нарушением нормального биотехнического процесса. Молодь карпа выращивают без подращивания.

Мощность рыбопитомника свыше II млн. годовиков в год, личинок карпа и растительноядных рыб - 150 млн. шт.

В период наших исследований температурные условия имели сходный характер. Так, в период подращивания растительноядных рыб температура воды в зимовальных прудах колебалась от 21,0°-26,2° и составляла в среднем 23,06°. Температура воды в выростных прудах характеризуется стабильным повышением в июле-августе до 27 - 29° и, как правило, понижением температуры воды ниже 18° к концу сентября.

Содержание растворенного в воде кислорода в зимовальных прудах при подращивании растительноядных рыб изменялось от 4,5 до 9,3 мг/л, но в отдельных прудах, где развивались лептестерии кислород понижался до 2,6 мг/л. В выростных прудах содержание в воде кислорода изменялось от 3,2 до 6,7 мг/л и, как правило, при повышении температуры воды в июле-августе выше 27°, содержание кислорода в воде кратковременно понижалось в отдельных прудах ниже 2 мг/л.

Вода во всех прудах характеризовалась слабощелочной-щелочной реакцией. Минерализация воды в прудах колебалась от 192,6-593,0 мг/л. Таким образом в целом гидрохимический режим в прудах Чаганского рыбопитомника был близок к оптимальным параметрам и был благоприятен для выращивания молоди карпа и растительноядных рыб.

Фитопланктон в прудах разнообразен и представлен 54 видами. Доминируют зеленые водоросли - 29 видов (Зайцев, Колосова, 1988). Зоопланктон представлен 53 видами (Киселева, 1988). Об-

чая среднесезонная биомасса зоопланктона во всех исследуемых выростных прудах варьировала от 0,36-12,45 г/м<sup>3</sup>.

Главными представителями бентоса в выростных прудах были хиронмиды, олигохеты, моллюски. Ведущее место в бентосе занимают хиронмиды - 26 видов (Зинченко, Зайцев, 1987).

При подращивании личинок растительноядных рыб средняя биомасса зоопланктона колебалась от 0,23 - 11,1 г/м<sup>3</sup>. Из бентосных организмов преобладали олигохеты из сем. Tubificidae.

Паразитофауна карпа и растительноядных рыб представлена 37 видами. Доминируют паразиты с прямым циклом развития: ресничные, моногенеи, паразитические рачки. Паразитофауна карпа представлена 20 видами. Среди них доминируют ресничные и моногенеи р. *Dactylogyrus*.

У белого амура зарегистрировано 17 видов. Потенциальную опасность для белого амура представляют рачки р. *Lernaea* и р. *Sinergasilus*.

У толстолобиков обоих видов обнаружено 17 видов паразитов. Широкое распространение у толстолобиков имеют микроспорей *Myxobolus pavlovskii*, особенно на первом году жизни. За период исследований вспышки микроспорей у толстолобиков отмечены в 1985, 1986, 1987 гг.

#### ГЛАВА 4. ДИНАМИКА ЗАРАЖЕНИЯ ТОЛСТОЛОБИКОВ

##### *M. PAVLOVSKII*

В главе дан анализ возрастной и сезонной динамики заражения толстолобиков микроспореей *M. pavlovskii*, показаны локализация и развитие паразита на каверных дугах.

*M. pavlovskii* встречается у толстолобиков разного возраста: от личинок до пятилетних особей (табл. I). Большая пред-

расположенность к заражению паразитом отмечена у молоди этих рыб. У рыб старшего возраста *M. pavlovskii* встречается единично. Особенно опасен паразит на первом году жизни. У личинок в начальный период заражения на стадии плазмотомии при интенсивности инвазии 50 - 150 шт на жаберную дугу гибель достигает 80-100 %

Таблица I.

Возрастная динамика заражения толстолобика *M. pavlovskii*

| возраст | Пестрый толстолобик |          | Белый толстолобик |         |
|---------|---------------------|----------|-------------------|---------|
|         | Э.И.                | И.И.     | Э.И.              | И.И.    |
|         | %                   | экз.     | %                 | экз.    |
| Личинки | 100                 | 1-500    | 100               | 1-400   |
| Мальки  | 100                 | 40-2000  | 100               | 10-1600 |
| 0+      | 100                 | 500-5840 | 70                | 50-2560 |
| I`      | 100                 | 200-2000 | 60                | 10-50   |
| I+      | 70                  | 100-1800 | 60                | 10-20   |
| 2+ - 3+ | 60                  | 10 - 35  | -                 | -       |
| 4+      | 50                  | 1 - 20   | -                 | -       |
| 5+ - 6+ | -                   | -        | -                 | -       |

Пестрый толстолобик при выращивании в прудах более восприимчив к заражению *M. pavlovskii*, чем белый толстолобик. Только на первом году жизни (август) процент заражения и интенсивность инвазии у обоих толстолобиков бывает одинакова, а в дальнейшем, начиная со второго года, у белого толстолобика количество паразитов *M. pavlovskii* на жабрах резко сокращается.

В естественных условиях, когда адаптация миксоэсперей происходит в условиях нормальной физиологии хозяина, такой высокой зараженности не наблюдалось. Так, у двухлеток - трехлеток

пестрого и белого толстолобиков, выловленных в низовьях р. Волги (6 экз.) *M. pavlovskii* вообще не был зарегистрирован.

Анализ сезонной динамики заражения показывают, что личинки толстолобиков заражаются *M. pavlovskii* в июне при температуре воды выше  $21^{\circ}$ /  $T_{ср. 23.06^{\circ}}$ . Впервые установлено, что у личинок плазмодии паразита развиваются сначала в жаберных тычинках, а позднее в основании жаберных лепестков. По-видимому, когда жаберный аппарат недостаточно развит, плазмодии паразита находят благоприятные условия для развития в местах ближе к жаберной артерии.

В середине июля при средней температуре  $26^{\circ}$  у молоди толстолобиков, при средней длине тела пестрого толстолобика 7,5 см и массе 8,8 г и при средней длине белого толстолобика 6,9 см и массе 7,9 г начинается процесс спорообразования. Опытным путем установлено, что процесс спорообразования ускоряется при повышении температуры. Развитие цист на жаберных лепестках происходит неравномерно. В основании жаберного лепестка формируются "крупные" цисты, в средней части "средние", на концах жаберных лепестков - "мелкие". Впервые нами установлено, что рассеивание происходит не только за счет выхода отдельных спор в окружающую среду, но и отторжения целиком созревшей цисты со зрелыми спорами в просвет между жаберными лепестками. Такое явление отмечено как в случаях высокой интенсивности заражения, так и при незначительной инвазии. У молоди пестрого толстолобика рассеивание спор происходит в третьей декаде июля - первой декаде августа при средней температуре  $24,2^{\circ}$ ; у молоди белого толстолобика основное рассеивание происходит во второй-третьей декаде августа при средней температуре  $24^{\circ}$ . У пестрого толстолобика заражение устойчивое, но в течении вегетационного периода наблюдается не

не менее двух пиков зараженности, а у белого — один. Постепенное созревание спор происходит в зимний период; в марте при расчлениии льда начинается массовое созревание и рассеивание спор. Гибель молды толстолобиков наблюдается на стадии плазмотомии и в период выделения цист наружу. Летальная доза для личинок 400-500 цист; для сеголетка и годownika — свыше 2000 цист.

цисты на каверных дугах толстолобиков распределяются равномерно, но при высокой зараженности первая и четвертая поражаются сильнее.

## ГЛАВА 5. БИОЛОГИЯ *M. pavlovskii*

В главе приводятся данные о сроках и путях заражения *M. pavlovskii*, длительности жизненного цикла. Выявлено инвазионное качество спор в зависимости от сроков пребывания их во внешней среде.

Проследить время заражения толстолобиков в естественных и искусственных условиях сложно, поэтому в литературе имеются противоречивые данные. Нами этот вопрос решен ежедневным отловом личинок из зараженного пруда с последующим их выдерживанием в аквариумах и исследованием их через разное время на наличие паразита. В результате установлено, что личинки пестрого толстолобика заражаются на 6-7 день подращивания, на III-этапе личиночного периода в возрасте 9-10 суток, при средней массе 19,2 мг, при pH воды 7,6 и растворенном в воде кислороде 8,3 мг/л. Личинки белого толстолобика также заражаются на 6-7 день подращивания в возрасте 9-10 суток, при средней массе 18,9 мг, при pH воды 7,7 и растворенного в воде кислорода 8 мг/л. В этот период в каверных личинках и частично в основании каверных лепестков на гистологических препаратах обнаружены 2-4 ядерные

плазмодии. Опытным путем установлено, что при разовой дозе заражения зараженность *M. pavlovskii* составила 30 экз. Отмечено, что интенсивность инвазии толстолобиков зависит от количества дней, проведенных в зараженном пруду, т.е. при наличии инвазионного начала заражение происходит непрерывно. При разовой дозе заражения толстолобиков *M. pavlovskii* стадия созревания и рассеивания спор происходит быстрее, чем в пруду, где заражение постоянное.

Опыты по контактному заражению стерильных личинок от зараженной молоди (годовиков толстолобиков), которые проводились в аквариумах в течении 4 месяцев, дали отрицательные результаты несмотря на то, что на дне аквариумов постоянно находили выделенные от больных рыб споры. В аквариумах были установлены аэраторы, которые позволяли держать уровень растворенного в воде кислорода не менее 6-8 мг/л и поддерживать перемешивание воды, что создавала предпосылку заглатывания спор, поднимающихся током воды со дна аквариума. Не отмечено заражение стерильных личинок, содержавшихся 2 часа в микроаквариумах со свежесделанными спорами с больных годовиков и последующим содержанием личинок в аквариумах со спорами в течении 4 месяцев. При исследовании экскрементов и кишечника личинок толстолобиков в период проведения опыта постоянно находили споры *M. pavlovskii* без морфологических изменений.

Опыты по заражению стерильных личинок толстолобиков спорами, выдержанными в воде от 1 месяца до 2 лет, показали положительные результаты в опыте IБ - IУ серии, где присутствовал зоопланктон и споры были выдержаны в течении 4-х месяцев. На жабрах на IБ день у I экз. толстолобика были обнаружены единичные плазмодии. В других опытах этой серии отмечалась значительная гибель опытных рыб на 5-20 сутки по неустановленным причинам. В

опыте 18 со спорами, выдержанными в отстоянной воде при температуре 5°, через 2 дня с начала опыта в кишечнике рыб были отмечены споры с невыстреленными стрекательными нитями, на жабрах в области жаберных тычинок 2 споры из 10 просмотренных были с выстреленными капсулами. Просмотр экскрементов рыб показал, что споры проходят через кишечный тракт без морфологических изменений, но на 12 день в экскрементах рыб среди нераскрытых спор появились отдельные створки. В этот же период исследования среди спор появились "парящие" образования размером 8,7 мкм. При этом у опытных рыб в основании жаберных лепестков были обнаружены плазмодийные стадии паразита. В дальнейшем наши наблюдения показали: как только среди спор появлялись "парящие" образования, у спор происходило выстреливание стрекательных нитей и раскрытие створок.

Опытным путем проведена попытка заразить стерильных личинок толстолобиков через грунт, воду, олигохет, зоопланктон, взятых из зимовальных прудов с инвазионным началом.

В опыте с зараженным грунтом, выдержанным около 2 месяцев без воды, на второй день у 1 экз. пестрого толстолобика из 5 исследованных рыб на жабрах в районе жаберных тычинок встретились плазмодии с единичной зернистостью.

В опыте с влажным грунтом вместе с олигохетами, собранными со дна зимовального пруда, неблагоприятного по микробозлезу, в течение 4-х месяцев актиномиксиды ни в олигохетах ни в воде не были зарегистрированы, но у одного толстолобика на жабрах отмечены 2 экз. плазмодий паразита. В кишечнике олигохет постоянно находили споры паразита без деструктивных изменений, актиномиксиды не встречались. В опытах со стерильными олигохетами при добавлении спор, выдержанных 0,5 месяца в отстоянной воде в те-

чении 3-х и 5-ти месяцев, актиномиксиды не были обнаружены.

В двух опытах при добавлении в аквариум воды из зимовального и бьростного прудов, в одном случае заражение толстолобиков произошло.

В опытах с зоопланктоном, собранным с зараженного пруда и внесенном в аквариум, получен отрицательный результат; также не произошло заражения толстолобиков в аквариуме, куда вносили стерильный зоопланктон, выдержанный со спорами *M. pavlovskii*

Длительность жизненного цикла паразита установлена при выдерживании стерильных личинок в зараженном пруду в течении 1-2 суток и дальнейшего наблюдения за ними в аквариуме. В период формирования цист ( в момент плазмотомии) всегда отмечалась гибель рыб.

Личинки сначала плавают на поверхности, потом теряют координацию, постепенно опускаются на дно и погибают. Мы, считаем, что причиной гибели является токсикоз за счет продуктов обмена растущих плазмодий; потребление ими питательных веществ необходимых для роста личинок и гипоксии. Установлено, что стадия спорообразования у белого толстолобика начинается с 15-17 дня после заражения. Размер образующихся цист зависит от места их локализации на жаберном лепестке; так всегда в основании жаберных лепестков цисты крупнее и созревают раньше. Рост цист происходит с ростом жаберного аппарата и зависит от физиологического состояния рыб и обеспеченности их кормом. Так, например в прудах в апреле цисты без спор встречались только у мелких рыб. В аквариумах в виду того, что личинки в них плохо растут, темп роста цист снижается, накопление спор в цистах в массовом количестве не наблюдается. Но длительность жизненного цикла паразита в аквариуме и в пруду совпадает. Отмечено, что отход личинок на стадии спорообразования постепенно снижается. Конец жизненного цик-

ла мы определили по периоду рассеивания спор и началу снижения зараженности рыб, что соответствовало 25 дню от начала заражения. Единичные цисты и споры на жабрах отмечались на 40 день. Через 60 дней численность цист и единичных спор практически не меняется, то есть процесс рассеивания растянут во времени. Исследование жизненного цикла у личинок белого толстолобика от второго тура позволяет сделать вывод, что сроки развития паразита являются идентичными первому, но интенсивность инвазии увеличивается в 3-5 раз.

Наблюдения за жизненным циклом паразита у личинок пестрого толстолобика позволяет установить, что массовая гибель личинок происходит на 6-7 день после заражения, но процесс спорообразования начинается на 21-23 день с момента заражения. Процесс рассеивания происходит на 30 день. В экспериментальных условиях жизненный цикл у пестрого толстолобика был дольше на 5-7 дней, чем у белого толстолобика.

Для установления сроков выживаемости спор во внешней среде была проведена серия опытов. Выделенные споры помещали в 1% раствор ацетилсалициловой кислоты, дистиллированную воду и отстоянную воду при температуре 5-6° и 20-25°; кроме того споры были подвергнуты высушиванию в течении 6 месяцев и один год. В результате было установлено, что в растворе аспирина через сутки погибали на 50%, а через месяц у 100% спор произошли деструктивные изменения. В дистиллированной воде споры погибали через месяц на 10%, а через 3 месяца - 80%. В отстоянной воде при низкой температуре (5-6°) до 8 месяцев споры имели нормальную морфологию и только на 9-ом месяце единично у спор началась экструзия нитей. При высокой температуре (20-25°) споры сохранялись хуже и через 4 месяца появлялись единичные экземпляры с

выстреленными нитями. Наблюдения показали, что большинство спор отстоянной воде сохраняются до 8 месяцев. В дальнейшем инвазивность постепенно падает, увеличивается количество выстреленных спор и к 12 месяцам споры в воде встречаются единично. Споры очень чувствительны к высушиванию.

Экспериментально в пруду установлено, что споры после выведения и нахождения во внешней среде два с половиной месяца становятся инвазивными. Однако, мы предполагаем, что этот срок может быть короче, но провести исследования по уточнению этих данных экспериментально не представлялось возможным. На вызывание спор вероятно влияют температура, содержание кислорода в воде, присутствие гидробионтов и гнилостные процессы.

Нами установлено, что при содержании спор в открытых емкостях с отстоянной водой при температуре 20-25° через 2 суток с момента сбора спор в воде появляются "парящие" звездчатые образования. Подобные же образования наблюдались на дне аквариумов, где имелись выделившиеся споры. Эти образования обнаруживались всегда, когда наблюдались раскрывшиеся створки спор. "Парящие" образования были размером 5,8 - 8,7 мкм, длина их с щупальцами 11,6 - 14,5 мкм на глицерин-желатиновых препаратах. В живом виде длина их со щупальцами не превышала 23 мкм. Количество ответвлений (щупалец) не превышало шесть. В отличие от гекса-актино-миксидий по Эль-Матбули и др. (El-Matbouli, 1991) длина звездчатых образований, обнаруженных нами, меньше в 4 раза. Кроме этого в звездчатых формах имеются от 2 до 5 зернистых включений. От амеб "парящие" формы отличаются отсутствием подвижности и постоянством формы. Мы предполагаем, что "парящие" образования являются 2-х ядерными гаплоидными зародышами, выходящими из спор при раскрытии створок и внедряющимися в каберную ткань

толстолобикъ.

## ГЛАВА 6. ВЗАИМОТНОШЕНИЕ В ПАРАЗИТАРНОЙ СИСТЕМЕ ТОЛСТОЛОБИК - M. PAVLOVSKII

В главе указывается, что паразитарная система толстолобик-*M. pavlovskii* является древней и эволюционно глубоко адаптированной на всех этапах жизненного цикла.

Морфология спор по нашим данным отличается от приведенных ранее описаний А.Х.Ахмерова (1954), С.С.Шульмана (1966) и других авторов. Типичной формой споры является овальная, отсутствует ярко выраженная подофильная вакуоль. Цисты овальной или сигарообразной формы и меньше по размерам. Созревание спор в цисте никогда не достигает 100 % споры, выделившиеся из цисты плохо рассеиваются. Средний размер спор: длина спор - 10,59 мкм; ширина - 8,96 мкм, длина большей полярной капсулы - 5,28 мкм; длина меньшей полярной капсулы - 2,39 мкм; длина интеркапсулярного отростка - 1,91 мкм. При исследовании спор отмечено наличие зрела или "слизистого воротничка" в течении всех месяцев исследования от 10 до 40 %, но наибольший процент таких спор встречается в мелких цистах и в экспериментальных условиях (до 80 %). По-видимому "слизистый воротничок" является адаптацией споры к неблагоприятным условиям: высыханию и перепадам температуры. В крупных цистах споры морфологически не отличаются в зависимости от времени сбора, локализации, но отмечена климатическая изменчивость. Не установлено достоверных различий в морфологии спор у белого и пестрого толстолобика, у мелких и крупных рыб, но при ухудшении физиологического состояния хозяина, при проведении эксперимента размеры спор уменьшаются. Наиболее стабильными признаками у спор являются расположение полярных капсул, а лабильны

ми длина и ширина спор.

При исследовании спор обнаружены аномальные споры и их количество увеличилось в опытных условиях при снижении растворенного в воде кислорода, затемнении аквариума. Они преобладали у пестрых толстолобиков и их было больше в мелких цистах. В сезонном аспекте аномальных спор было больше в апреле. Перечисленные факты позволяют нам предположить, что причиной появления аномальных спор является ухудшение физиологического состояния рыб в результате отсутствия полноценных естественных кормов и неблагоприятных условий среды обитания в условиях прудов.

При разовом заражении хозяина не происходит одновременное созревание всех формирующихся цист, а происходит постепенное созревание; отторжение цист растянуто во времени, что позволяет исключить гибель хозяина в результате отторжения 70 % респираторного эпителия; тем самым поддерживается существование паразитарной системы. На этом факте мы сталкиваемся с процессом саморегулирования жизненного цикла паразита позволяющего ему выжить.

Нами установлено, что в опытах ряд водных беспозвоночных (колосратки, циклопы, дафнии, ракушковые рачки, амёбы) элиминируют споры *M. pavlovskii*; в тоже время моллюски и олигохеты не являются элиминаторами спор, то есть через их пищеварительный тракт споры проходят транзитом.

Помимо наблюдений за элиминацией спор в опытах, получены данные в естественных условиях, позволяющие судить об этих процессах в рыбоводных прудах. Установлено, что при биомассе зоопланктона в пруду в среднем  $9,28 \text{ г/м}^3$  средняя зараженность рыб составила 15-30 цист на одну каберную дугу. При повторном использовании пруда, когда кормовая база была бедной: биомасса зооплан-

ктона в среднем составила всего  $0,2 \text{ г/м}^3$ ; на одну жаберную дугу приходилось 100 и более цист *M. pavlovskii*, то есть в первом случае имело место снижение зараженности за счет выедания зоопланктоном спор миксоспорей. Низкая численность зоопланктона при повторном использовании пруда не могла сколь-либо заметно влиять на численность миксоспорей, в результате чего зараженность резко усилилась.

Обсуждая роль тубифицид как участников цикла развития *M. pavlovskii* на основании опытов по их искусственному заражению и получению отрицательного результата, находению не выстреленных спор в просвете кишечника тубифицид и не измененных спор в экскрементах тубифицид мы считаем, что они играют роль транспортно-го хозяина, обеспечивающего подъем спор из глубины грунта на его поверхность.

Установлено, что паразит относится к группе теплолюбивых организмов и оптимальной температурой для его развития являются температура воды  $21-27^{\circ} \text{ C}$ .

Снижение интенсивности обменных процессов в организме рыб, связанное с понижением содержания кислорода в воде до  $0,8 - 0,9 \text{ мг/л}$  и голоданием, вызывало замедление сроков развития паразита и изменения в морфологии спор.

Установлено, что прямой ущерб в виде смертности при паразитировании *M. pavlovskii* у толстолобиков имеет место в личиночный период на стадии плазматомии при интенсивности инвазии паразита свыше 50 цист на жаберную дугу в возрасте 9-10 суток, у сеглеток свыше 2000 цист на рыбу. Гибель рыб наблюдается также в весенний период при резком подъеме температуры, когда происходит одновременное отделение цист по всей длине жаберного лепестка. В случае постепенного подъема температуры такого явления

не отмечается.

По мере роста цист происходит сдавливание и уплотнение рес-пираторного эпителия вплоть до его полного вытеснения и наруша-ется дыхательная функция, что ведет к снижению темпа роста и ре-зистентности рыб. У сильно зараженных рыб наблюдается снижение гемоглобина от 42,1 до 62,2 г/л и понижение числа эритроцитов до 1,38 млн/мкл.

## ГЛАВА 7. ПУТИ ПРОФИЛАКТИКИ МИКСОБОЛЕЗА

Для разработки мер профилактики выяснено влияние условия подрашивания на зараженность толстолобиков *M.pavlovskii*. Выясне-но влияние осушения водоемов на паразита. Изысканы эффективные обеззараживающие средства.

Для профилактики миксоблеза толстолобиков рекомендуется: при отсутствии мальковых прудов допускается возможность исполь-зовать для подрашивания личинок толстолобиков пруды, где содер-жалась рыба, не восприимчивая к данному заболеванию: следует тщательно высушивать ложе зараженных прудов более года; исполь-зовать в качестве дезинфектантов 2 % раствор едкого натра (ка-устическая сода), гипохлорит кальция из расчета 2,5 - 3,5 ц/га, хлорную известь 5-7 ц/га. Применение негашеной извести из рас-чета 150-200 кг/га, хлорной извести 1-3 г/м<sup>3</sup> не дает положитель-ного результата; проводить интродукцию дафний с целью elimina-ции спор *M.pavlovskii*. Допускается вывоз личинки (2-3 дневной) с целью разведения, выращивание не восприимчивых к возбудителю рыб.

## В Ы В О Д Ы

*I. M.pavlovskii* поражает в основном младшие возрастные группы белого и пестрого толстолобика. Паразит теплолюбивый,

оптимальная температура воды для развития  $+21 - 27^{\circ} \text{C}$ ; при температуре ниже  $17^{\circ}$  развитие замедляется, но не прекращается.

2. Заражение толстолобиков происходит в возрасте 9-10 суток на 6-7 день подрашивания личинок в прудах, и продолжается в период всего активного питания. Начало заражения совпадает с 26-ой стадией личиночного периода при средней массе пестрого толстолобика 19,2 мг, белого толстолобика - 18,9 мг.

3. У пестрого толстолобика заражение *M. pavlovskii* постоянное, но в течении вегетационного периода наблюдается не менее двух пиков зараженности, а у белого - один. Пестрый толстолобик более подвержен болезни, чем белый. На третьем году белый толстолобик практически не заражается.

4. Жизненный цикл паразита 25-30 дней. Появление цист со спорами у белого толстолобика наблюдается через 15-17 дней после заражения. У пестрого толстолобика этот процесс происходит на 5-7 дней позднее. Процесс рассеивания спор у толстолобиков растянут во времени. Выделение паразита во внешнюю среду происходит не только спорами, но отделением от каберной ткани целой цисты, причем этот способ не зависит от интенсивности поражения кабр паразитом.

Цисты *M. pavlovskii* на каберных дугах толстолобиков распределяются равномерно, но при высокой зараженности первая и четвертая каберные дуги поражаются сильнее.

5. Споры *M. pavlovskii* сохраняют жизнеспособность в течении 8 месяцев. Через год инвазионные свойства паразита в значительной степени теряются. Споры очень чувствительны к высушиванию.

6. При постановке опытов по заражению толстолобиков спорами *M. pavlovskii* установлено, что споры не выстреливают в кишечнике рыб, а проходят транзитом. Один из путей заражения осуществляется в каберной полости, каберных тычинках и каберных

лепестках.

7. wodные беспозвоночные (амебы, колосратки, кладосперы, копеподы) элиминируют споры *M. pavlovskii*. Олигохеты не являются промежуточным хозяином *M. pavlovskii*, а играют роль транспортного хозяина.

8. Споры *M. pavlovskii* овальной формы, а не шаровидной, как отмечалось при первоописании. Интеркапсулярный стросток имеет меньшую длину, чем размеры приведенные при первоописании. В цистах происходит неравномерное созревание спор; отмечено отсутствие в них хорошо выраженной инфофильной вакуоли даже при иодировании спор и фазовконтрастном исследовании.

9. Споры в зависимости от топографии цист отличаются размерами, имея тенденцию к их уменьшению в участках на концах жаберных лепестков. Зрелые споры в разные сезоны морфологически не имеют различий. Не отмечается существенных различий у спор из южных рыбоводных зон, которые отличаются размерами от спор из северных районов рыбоводства. Споры белого и пестрого толстолобика не отличаются размерами, если собраны в одно и тоже время; цисты одинаковой топографии. У крупных толстолобиков ( $R_{ср}=47,3г$ ) и мелких ( $R_{ср} = 11,4 г$ ) в прудах в морфологии спор достоверных различий не отмечено.

10. При содержании рыб в аквариумах резко возрастает количество аномальных спор; вероятно это положение можно использовать при оценке состояния рыб. У пестрого толстолобика на I году жизни атипичных спор встречается больше и их изменчивость многообразнее, чем у белого толстолобика. При неблагоприятном кислородном режиме количество аномальных спор резко увеличивается. При хорошем насыщении воды кислородом, но при отсутствии полноценных естественных кормов, также увеличивается количество аномальных спор.

11. При высокой интенсивности инвазии у *M. pavlovskii* отмечен процесс саморегулирования созревания спор, создающий возможность выживания хозяина и сохранения паразита: выделение цист и рассеивание спор происходит постепенно по мере их созревания; отделение цист от жаберной ткани происходит при неполном созревании спор в цисте.

12. Паразит хорошо приспособлен к хозяину и в основном оказывает механическое воздействие, уменьшая дыхательную поверхность жабр. Патогенное влияние *M. pavlovskii* на хозяина происходит на ранних стадиях развития толстолобиков. Летальная доза для личинок 400-500 цист, для сеголеток и годобиков свыше 2000 цист. Заражение личинок *M. pavlovskii* в период подращивания сильно влияет на массу личинок, навеска личинок к концу подращивания снижается в 5,8 раз. Повышенный отход рыбы наблюдается на стадии плазмотомии и в период выделения цист во внешнюю среду. У сильно зараженных сеголетков (свыше 2000 цист на рыбу) гемоглобин падает до 62,2 г/л, а у отдельных особей до 42,1 г/л, отмечается снижение эритроцитов до 1,38 млн/мкл. Гибель зараженных личинок в выростных прудах бывает значительной в первые дни посадки на выращивание, а выход толстолобиков в выростных прудах ниже нормы (40,5 % при плане 65 %).

13. Эффективными обеззараживающими средствами являются едкий натр, гипохлорит кальция. Длительное осушение прудов также губительно действует на споры паразита.

14. Полученные материалы по биологии *M. pavlovskii* легли в основу "временной инструкции по диагностике и ликвидации микроспороза толстолобиков", рассмотренной и одобренной Методическим Советом АИИПРХа (протокол № 6 от 15 декабря 1989 г.) и внедренной на Чаганском рыбхозпитомнике.

СПИСОК РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Чепурная А.Г. К изучению биологии *Myxobolus pavlovskii* // Современное состояние и перспективы рационального использования и охраны рыбного хозяйства в бассейне Азовского моря. Всесоюз. конф. Ростов-на-Дону, ноябрь, 1987. Тез. докл. - Ч. 2. М. 1987. - С. II 6- II 7.
2. Чепурная А.Г. Миксоболез толстолобиков // Экспресс-информация / ЦНИИТЭИРХ. Сер. Рыбохозяйственное использование внутренних водоемов. 1987. - Вып. 5. - С. 5-7.
3. Чепурная А.Г. Некоторые особенности биологии *Myxobolus pavlovskii* у пестрого толстолобика // Сб. научн. трудов ВНИИРХ. 1987. - Вып. 50. - С. 75-79.
4. Чепурная А.Г. Миксоболез толстолобиков и роль гидробионтов в элиминации и распространении возбудителя заболевания // Пути повышения эффективности пресноводной аквакультуры. Сб. научн. трудов ТСХА. 1991. - С. 70-74.
5. Сперинауа А.Г. Biology of *Myxobolus pavlovskii* (Achmerov, 1954) (Mycosporae, Myxobolidae), bighead parasite. // Internat. Sympos. "Problems of fish parasitology". Petrozavodsk. 1991. - P. 16.
6. Чепурная А.Г. Роль водных беспозвоночных в элиминации спор *Myxobolus pavlovskii* (Achmerov, 1954) (Mycosporae, Myxobolidae) // Сб. научн. трудов ВНИИРХ. 1991. - Вып. 63. - С. 56-62.
7. Чепурная А.Г., Шкодин Н.В. Профилактика болезней рыб - резерв увеличения рыбопродуктивности прудов // Повышение рыбопродуктивности внутренних водоемов Астрах. обл. Научн.-практ. конф. Астрахань, октябрь. 1992. Тез. докл. Астрахань. 1992. - С. 80-81.
8. Сперинауа А.Г. Role of aquatic invertebrates in the elimination of spores of *Myxobolus pavlovskii* (Achmerov, 1954) (Mycosporae, Myxobolidae), parasite of silver carp. // Ecological parasitology. 1992. - V. N2. - P. 150-153.