

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ДЕПАРТАМЕНТ НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ПОЛИТИКИ
И ОБРАЗОВАНИЯ**

**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ
ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ**

**МЕТОД ПОЛНОГО
ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО
ВСКРЫТИЯ РЫБ**

**Учебное пособие
по дисциплине «Инвазионные болезни рыб»**

**Санкт-Петербург
2016**

УДК: 639.2/.3:616-091.5(075)

Кузнецова Е.В., Воронин В.Н., Мосягина М.В. Метод полного паразитологического вскрытия рыб. Учебное пособие по дисциплине «Инвазионные болезни рыб». - СПб., Издательство ФГБОУ ВО «СПбГАВМ», 2016 г. – 85 с.

Учебное пособие содержит основы общей паразитологии, порядок и описание всех основных этапов общего паразитологического исследования рыбы, методы изучения возбудителей протозойных болезней рыб, гельминтозов, крустацеозов и др. болезней рыб. Включены методы фиксации и окраски паразитов, устройство и правила работы со световым микроскопом, список необходимого оборудования, правила отбора больных рыб, патологического материала, крови, кормов и пересылки для лабораторного исследования, бланки вскрытий, форма протокола полного паразитологического вскрытия рыб, а также рецепты фиксаторов и красителей.

Учебное пособие предназначено для студентов очной формы обучения по направлению 35.03.08 – «Водные биоресурсы и аквакультура».

Составители:

Кузнецова Е.В., кандидат биологических наук,
Воронин В.Н., доктор биологических наук,
Мосягина М.В., кандидат биологических наук.

Рецензент: Щипакин М.В., доцент, доктор ветеринарных наук

Учебное пособие одобрено и рекомендовано к изданию
методическим советом ФГБОУ ВО «СПбГАВМ»,
протокол № 6 от 02.06.2016 г.

© ФГБОУ ВО «СПбГАВМ», 2016 г.

ВВЕДЕНИЕ

Инвазионными (или паразитарными) называют болезни, возбудителями которых являются животные-паразиты: простейшие, гельминты, ракообразные, кишечнорастворимые, моллюски.

Для правильной постановки диагноза болезни необходимо определить причины его возникновения, выявить возможных возбудителей. Существует ряд терминов, которые употребляются при описании болезней рыб, их возбудителей, мероприятий по профилактике и лечению.

Болезнь - это реакция живого организма на действие неблагоприятных факторов, в том числе и возбудителей. Болезни проявляются в форме патологических процессов.

Патологический процесс - это изменения в строении или функции органов и тканей больного. Проявляется в форме клинических признаков и симптомов, характерных для определенных болезней. Совокупность симптомов составляет синдром заболевания. Знание конкретных симптомов и синдромов болезней рыб необходимо для правильной постановки диагноза. При этом следует помнить, что одни и те же симптомы и синдромы могут вызываться разными причинами.

При постановке диагноза болезней рыб важно правильно определить их принадлежность к определенной группе. Все болезни рыб можно разделить на три основные группы: заразные, незаразные и невыясненной этиологии (табл. 1).

Таблица 1.

Классификация болезней рыб

Болезни пресноводных рыб		
Заразные	Незаразные	Невыясненной этиологии
<i>Инфекционные:</i> вирусные, бактериальные, микозы (грибковые) <i>Инвазионные (паразитарные):</i> протозойные, вызываемые кишечнорастворимыми, гельминтозы, вызываемые моллюсками, крустацеозы (вызываемые рачками)	<i>Алиментарные,</i> возникающие при ухудшении условий окружающей среды, <i>токсикозы,</i> <i>функциональные</i>	Когда причина болезни не ясна

К заразным болезням относятся те, которые имеют определенных возбудителей. Они в свою очередь делятся на инфекционные и инвазионные. К инфекционным относят болезни, которые вызывают вирусы, риккетсии, бактерии и грибы. Инвазионные болезни вызывают паразиты животного происхождения, которые в своей клетке имеют ядро, так называемые эукариоты. Незаразные болезни провоцируются неблагоприятными условиями содержания и кормления рыб, нарушениями технологий выращивания, не-

аккуратным обращением при выполнении рыбоводных мероприятий и т.п. Болезни, причины возникновения которых, пока не установлены, выделяют в группу болезней рыб, этиология которых недостаточно изучена. Следует заметить, что приведённое деление болезней на группы условно. В водоёмах на организм рыб воздействуют не отдельные факторы, а их комплексы, и часто бывает трудно выделить из них главные. При этом следует помнить, что в результате действия одного фактора могут активизироваться другие, которые и будут являться причиной возникновения болезни рыб.

Классификация инвазионных болезней рыб

1. Протозойные болезни
 - 1.1. Болезни, вызываемые жгутиконосцами
 - 1.2. Болезни, вызываемые споровиками (тип *Apicomplexa*)
 - 1.3. Миксоспоридиозы
 - 1.4. Микроспоридиозы
 - 1.5. Болезни, вызываемые ресничными (тип *Ciliophora*)
 - 1.6. Сосущие инфузории рода *Capriniana*
2. Болезни, вызываемые кишечнорастворимыми
3. Гельминтозы
 - 3.1. Моногеноидозы
 - 3.2. Амфилиноз
 - 3.3. Цестодозы
 - 3.4. Трематодозы
 - 3.5. Акантоцефалозы
 - 3.6. Нематодозы
 - 3.7. Бделлозы
4. Болезни рыб, вызываемые личинками двустворчатых моллюсков
5. Крустацеозы
 - 5.1. Болезни, вызываемые паразитическими копеподами
 - 5.2. Болезни, вызываемые паразитическими жаброхвостыми
 - 5.3. Болезни, вызываемые паразитическими равноногими

ОСНОВЫ ОБЩЕЙ ПАРАЗИТОЛОГИИ

Паразитология - наука, изучающая явление паразитизма во всем его многообразии. Паразитизм - это одна из форм симбиоза - постоянного, не случайного, сосуществования организмов разной систематической принадлежности. Паразитические организмы встречаются почти во всех систематических группах животных и растений. Они подчиняются общим закономерностям живой природы и органически входят в состав экологических сообществ водоемов. Таким образом, паразитизм следует рассматривать как экологическое понятие.

Характеризуя явление паразитизма, следует отметить, что при этой форме сосуществования один организм - паразит - использует другой орга-

низм — хозяина — в качестве своеобразной экологической ниши и источника пищи. Паразит существует как бы в двух средах.

Одной из них служит организм хозяина (среда I порядка, или гостальная среда), другой - внешняя среда, в которой обитает хозяин (среда II порядка). При этом среда II порядка влияет на паразита чаще через организм хозяина, но это не исключает и прямого воздействия факторов внешней среды во время прохождения жизненного цикла.

Локализация паразитов очень разнообразна. Невозможно назвать какой-нибудь орган или ткань рыбы, в которых не находили бы паразитов. Даже для таких высокоспециализированных тканей, как костная и нервная, известны паразиты, относящиеся к различным группам животного и растительного мира. Так, в костной ткани встречаются некоторые микроспоридии, например возбудитель болезни лососевых *Myxobolus cerebralis*. В головном мозге рыб паразитируют метацеркарии трематод, микроспоридии. За последние годы описано много простейших, моногеней и рачков, обитающих в обонятельных ямках, полостях, ранее не подвергавшихся исследованию. Большинство этих видов приурочено к существованию только в этом месте.

По характеру паразитирования различают две большие группы паразитов: *эктопаразитов* и *эндопаразитов*.

Эктопаразиты обитают на поверхностных тканях хозяина и в его полостях, открывающихся во внешнюю среду (у рыб это кожа, плавники, жаберная, ротовая полости, обонятельные ямки). Эктопаразиты в течение всего своего жизненного цикла находятся непосредственно под воздействием факторов среды II порядка. Поэтому среди них находят формы, во многом напоминающие собственных свободно живущих предков, сравнительно мало изменившиеся под влиянием паразитического образа жизни.

Имеются также временные паразиты, которые легко покидают хозяина и долго могут существовать во внешней среде. Из паразитов рыб такими временными паразитами являются некоторые паразитические рачки, пиявки и др.

Эндопаразиты живут во внутренних органах и тканях хозяина. Поэтому их взаимоотношение со средой обитания опосредовано хозяином. Лишь на нескольких этапах своего развития, обычно связанных с заражением нового хозяина, эндопаразиты оказываются во внешней среде. Паразиты в это время ведут себя как свободно живущие организмы.

Важной чертой паразитизма является патогенность паразитов. При совместном сосуществовании паразитов и их хозяев сочлены этого сообщества находятся в антагонистических отношениях. Питаясь за счет хозяина, выделяя в его организм токсины, паразит оказывает на него вредоносное воздействие. Для нейтрализации этого вредного влияния хозяин использует различные механизмы, с помощью которых он противодействует патогенному воздействию паразита. При таком взаимном влиянии в процессе эволюции выработалось некое неустойчивое равновесие, при котором вредное

влияние паразита в той или иной мере нейтрализуется действием защитных сил организма хозяина, направленных на ограничение численности паразита и снижение его патогенности. Часто результатом взаимодействия этих двух факторов является выработка у хозяина иммунитета против паразитов.

Однако такое равновесие в системе паразит—хозяин находится в неустойчивом состоянии и в значительной мере зависит от организма хозяина и условий, способствующих проявлению патогенности паразита. Ослабление организма хозяина неблагоприятно и условиями существования или недостатком пищи способствует проявлению патогенного влияния паразита, что приводит к возникновению болезни и даже гибели хозяина. В случае благоприятных условий существования и питания хозяина усиливается влияние механизмов, противодействующих существованию паразитов, их численность не достигает опасных для хозяина пределов и болезнь не возникает. Эти особенности системы паразит - хозяин важно учитывать при оценке эпизоотической обстановки в водоемах и разработке мероприятий по ее улучшению.

Необходимо также знать возраст системы паразит-хозяин. При длительном совместном существовании в процессе эволюции паразит и хозяин приспособляются друг к другу, и возникает равновесие, при котором численность паразита не достигает значительных величин, и он не приносит большого вреда хозяину. В случае образования новой системы паразит—хозяин такая приспособленность отсутствует и благодаря патогенности паразита возникает болезнь, часто сопровождающаяся массовой гибелью рыбы. В естественных условиях такие изменения происходят редко. Чаще создание новых систем паразит-хозяин происходит при завозе рыб в новые для них регионы с целью акклиматизации или товарного выращивания. Наиболее яркий случай такого завоза отмечался в 1930-е годы, когда из Каспийского моря в Аральское море завезли севрюгу и с ней моногенею *Nitzschia sturionis*, которая прижилась у аральского шипа и вызвала болезнь, приведшее к почти полному уничтожению стада этой рыбы. В данном случае отсутствие иммунитета к паразиту у аральского шипа привело к чрезмерному увеличению численности этой моногенеи и возникновению болезни.

С растительноядными рыбами при их акклиматизации в водоемы РФ проникли ленточные гельминты рода *Bothriocephalus*, которые прижились у планктоноядных карповых, не имевших иммунитета к этим паразитам, вызывая у них болезни. Массовое развитие эргазилоза у сиговых, завезённых в водоемы Северо-Запада из Сибири, в какой-то мере связано с созданием для паразита *Ergasilus sieboldi* благоприятных условий и образованием новой системы паразит-хозяин.

Существенное влияние на возможность возникновения болезней оказывает такая особенность паразитических организмов, как их специфичность. Под специфичностью понимают избирательность паразитов к определенным видам хозяев. Узкая или строгая видовая специфичность характерна для паразитов, обитающих только на одном или на небольшом числе

видов рыб. Паразиты, встречающиеся на различных видах хозяев, характеризуются как широко специфичные или имеющие относительную специфичность. Почти все паразиты с относительной специфичностью имеют одного главного или основного хозяина, которому они отдают предпочтение, и ряд дополнительных, или второстепенных, хозяев. Если паразит у данного вида хозяина встречается исключительно редко, то его считают случайным хозяином.

Специфичность паразитов в значительной мере определяет круг мероприятий, направленных на предотвращение или ликвидацию болезней. Так, при узкой специфичности в основу оздоровительных работ могут быть положены мероприятия по замене одних объектов рыбоводства другими. Отсутствие специфичных хозяев приведет к вымиранию приспособленных к ним паразитов и ликвидации болезни. К паразитам, обладающим узкой специфичностью, относятся возбудители моногеноидозов. Узкий круг хозяев отмечается для некоторых паразитических раков и нематод. Паразитические раки из рода *Sinergasilus* встречаются только у растительноядных рыб. Широкой специфичностью обладают некоторые инфузории, цестоды, трематоды и др.

Знания общих закономерностей существования паразитических организмов, взаимоотношений между ними и их хозяевами, а также между теми и другими и факторами внешней среды необходимы для правильной оценки эпизоотического состояния водоема или рыбоводных хозяйств и планирования оздоровительной работы с целью снижения ущерба от болезней рыб, как в естественных, так и в искусственных водоемах.

ЦИКЛЫ РАЗВИТИЯ ПАРАЗИТОВ

В жизни всякого живого организма основными биологическими моментами являются приспособления, обуславливающие сохранение отдельных особей и вида в целом. Сохранение отдельных особей зависит в основном от питания, сохранение вида - от размножения. Если питанием паразиты обеспечиваются с помощью своего хозяина, то сохранение паразита как вида зависит от его численности. Это в свою очередь зависит от способности к размножению, что обеспечивается, как правило, очень высокой его плодовитостью. Однако чрезмерная численность паразита может привести к нехватке пищи для отдельных особей и их гибели, что невыгодно для сохранения вида. В процессе эволюции для расселения паразитов выработались различные приспособления, обеспечивающие расширение круга хозяев и тем самым сохранение вида.

Находясь в организме хозяина, паразит должен приспособиться к противодействию его защитных механизмов.

Находясь во внешней среде, паразит должен:

- быть в состоянии выживать при воздействии факторов внешней среды;

- быть способным находить своего хозяина и обладать возможностью проникновения в его организм;
- достигнуть той стадии развития, которая способна существовать в организме хозяина.

Для решения этих задач в процессе эволюции выработались механизмы, используя которые паразит сохраняет способность существовать в хозяине и заражать его другие особи. Комплекс таких механизмов называется циклом развития.

Различают паразитов с прямым (гомоксенным) и сложным (гетероксенным) циклом развития (рис. 1).

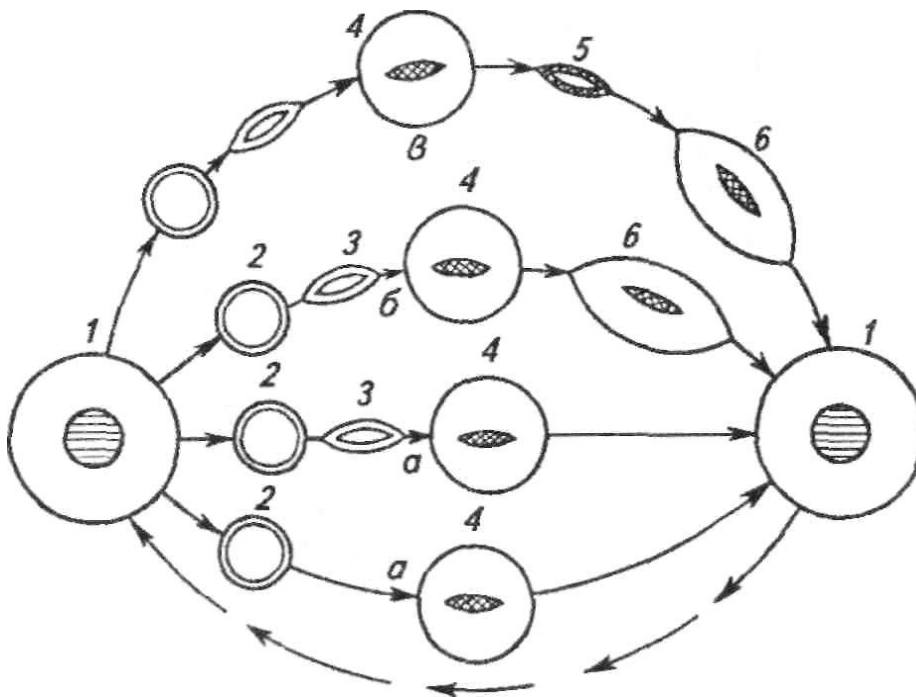


Рисунок 1. Схема циклов развития гельминтов:

а - водное беспозвоночное - рыба; б - водное беспозвоночное - мирная рыба - хищная рыба; в - водное беспозвоночное - мирная рыба - рыбающая птица;

1 - окончательный хозяин (рыба, птица, млекопитающее); 2 - яйца в воде; 3 - 1-я свободноплавающая личинка; 4 - личинка в водном беспозвоночном; 5 - 2-я свободноплавающая личинка; 6 - личинка в мирной рыбе.

Паразиты с прямым циклом развития либо сами переходят от одной особи хозяина на других, находясь некоторое время в воде, либо формируют личинок, плавающих в воде, которые при встрече с хозяином заражают его. К таким паразитам относятся простейшие, моногенеи и паразитические раки.

Паразиты со сложным циклом должны пройти определенное развитие в нескольких сменяющих друг друга хозяевах. Это паразиты из групп ленточных червей, нематод, трематод и др.

В процессе цикла развития паразит проходит ряд стадий, часть из которых связана с нахождением во внешней среде и паразитированием в нескольких хозяевах.

Хозяин, в котором находятся половозрелые паразиты, называется окончательным хозяином. Хозяева, в которых проходит развитие личиночных стадий, называются промежуточными, или дополнительными, хозяевами. У разных видов паразитов число окончательных и промежуточных хозяев может варьировать. У узко специфичных паразитов окончательный хозяин 1 или 2-3 близких вида. У широко специфичных их может быть много. Промежуточных хозяев у паразитов рыб может быть 1 или 2 вида. Патогенными свойствами обладают как половозрелые паразиты, так и их личиночные стадии

В цикле развития паразита можно различить:

- *яйцо* (у многоклеточных) или *цисты* (у простейших); на этой стадии паразит находится в пассивном состоянии и не нуждается в питании; на стадии яйца или цисты паразит может длительное время оставаться вне хозяина или в его организме, сохраняя свою жизнеспособность до момента создания благоприятных условий для заражения других особей хозяина;

- *личинка*; эта стадия развития отличается большим разнообразием строения у разных видов и сроками пребывания в том или ином хозяине; при этом развитие личиночных стадий может требовать смены нескольких промежуточных хозяев; набор промежуточных хозяев не бывает очень большим и, как правило, чаще всего состоит из определенных представителей фауны планктонных или бентосных организмов, обитающих в водоемах и служащих пищей для рыб; кроме того, у ряда паразитов промежуточными хозяевами служат различные моллюски, из которых выходят активно двигающиеся в воде личинки, способные заражать следующих промежуточных или окончательных хозяев; в организме промежуточных хозяев личиночные стадии проходят определенное развитие или даже размножаются бесполом путем; благодаря наличию промежуточных хозяев, которые служат пищей рыбам или обитают в одних с ними биотопах, облегчается расселение паразитов по хозяевам и сохранение их как видов; усложнение циклов развития служит для облегчения заражения своих хозяев и увеличивает шансы выживания паразита в борьбе за существование.

Кроме окончательных и промежуточных хозяев, прохождение развития в которых обязательно для завершения цикла, существует еще одна категория хозяев. Это резервуарные хозяева, нахождение в которых необязательно для завершения развития. Однако, находясь в них, инвазионные личинки способны оставаться живыми определенное время и заражать окончательных хозяев при попадании в их организм. К таким паразитам относятся ряд ленточных, круглых червей и трематод, которые могут паразитировать во многих мирных рыбах и заражать хищных животных, в том числе и рыб при попадании в их организм в форме пищи.

Набор окончательных и промежуточных хозяев, обязательных для успешного завершения развития до половозрелой стадии, строго постоянный для отдельных видов паразитов, и это необходимо учитывать при планировании оздоровительных мероприятий. Для организации эффективных противоэпизоотических мероприятий необходимо детальное знание цикла развития возбудителей и выбор наиболее уязвимого звена, воздействие на которое позволит снизить численность паразитов или уничтожить их полностью. Приведем несколько примеров. При возникновении ихтиофтириоза следует знать, что цикл развития возбудителя - инфузории *Ichthyophthirius multifiliis* - состоит из стадии трофонта, локализующегося под эпителием поверхности тела и жабр рыб; цисты размножения, образующейся из сошедшего с рыбы трофонта и прикрепленной к подводным предметам, и стадии заражения - личинок-бродяжек, выходящих из цисты и плавающих в воде. Воздействие на трофонта возбудителя, находящегося под эпителием поверхности тела или жабр рыб, затруднено и не гарантирует его уничтожения. Эпителий защищает трофонт от воздействия различных лечебных препаратов, вносимых в воду рыбоводных хозяйств. Однако чрезвычайно эффективным оказывается внесение в воду рыбоводного сооружения поваренной соли, которая убивает подвижную, инвазионную стадию цикла развития - бродяжек, которые выходят из цист размножения, находящихся на различных подводных предметах. Прерывая цикл развития на этой стадии, можно добиться полной ликвидации инфузории-возбудителя.

При организации оздоровительных мероприятий против диплостомоза необходимо учитывать, что жизненный цикл его возбудителя сложный и проходит с участием двух промежуточных хозяев - моллюсков и рыб. Половозрелые трематоды локализуются в кишечнике чаек, обитающих на водоеме. Яйца гельминтов с фекалиями чаек попадают в воду, где из них вылупляются личинки - мирацидии, которые плавают в воде и заражают моллюсков - первых промежуточных хозяев возбудителя диплостомоза. В моллюсках формируются следующие стадии развития и, в конце концов, образуются личинки - церкарии, которые выходят из моллюсков и некоторое время плавают в воде. При встрече церкарии с рыбой происходит заражение, и паразиты локализуются в хрусталике. Чайки заражаются, поедая инвазированную рыбу. Уничтожить метацеркарий в рыбе не представляется возможным. Поэтому остается только уничтожение промежуточных хозяев - моллюсков, содержащих личинок - церкарии.

При филометроидозе карпа возбудителем является нематода *Philometroides lusiana*. Весной в самках нематоды, локализующейся под чешуей карпа, созревают личинки, которые при температуре воды 17-18 °С выходят из самки, попадают в воду и плавают там некоторое время. Плавающих личинок поедает циклоп, и примерно через 7 дней в нем формируется инвазионная стадия. Карп заражается нематодой, поедая инвазированных циклопов. В кишечнике карпа личинки нематоды после переваривания циклопов совершают сложную миграцию и достигают плавательного пузыря. В его

стенках происходит оплодотворение самок, которые после этого мигрируют под чешую. Уничтожение половозрелых гельминтов под чешуей или в период миграции из кишечника в плавательный пузырь с применением лекарственных препаратов затруднено и не гарантирует полного уничтожения возбудителя. Наиболее эффективным мероприятием остается уничтожение промежуточных хозяев - циклопов при помощи хлорофоса, вносимого в пруд в период размножения нематоды.

Аналогичные примеры можно привести и в случаях заражения рыб возбудителями других болезней. Зная жизненные циклы и уязвимые звенья, их разрушают, разрывают цикл развития паразитов и уничтожают возбудителей болезней.

РЕГУЛЯЦИЯ И УСТОЙЧИВОСТЬ СИСТЕМ ПАРАЗИТ-ХОЗЯИН

Паразиты являются постоянными сочленами биологических сообществ водоема и испытывают воздействие различных факторов внешней среды и организма хозяина. Это отражается на составе фауны паразитов и численности отдельных ее представителей. Паразитофауна - это совокупность паразитов, обитающих в одном каком-либо хозяине. Паразитофауна конкретного вида рыбы включает совокупность всех видов паразитов, обнаруженных у данного вида рыб в онтогенезе в пределах его ареала, а паразитофауна водоема объединяет все виды паразитов, обнаруженных у рыб и других гидробионтов, обитающих в данном водоеме.

Формирование паразитофауны рыб подчиняется определенным закономерностям. Состав фауны паразитов в значительной мере зависит от характера водоема, его размера, химического состава воды в нем, глубины и многих других показателей окружающей среды.

Так, многие паразиты морских водоемов не могут существовать в пресных водоемах, в результате чего по составу паразитофауны можно судить, где в тот или иной период жизни обитал хозяин. Однако эндопаразиты, как и их хозяева, переносят изменения солености воды.

Значительно отличается паразитофауна рыб, обитающих в водоемах с разной глубиной. Так, при выращивании пеляди в водоемах Северо-Запада в теплые летние месяцы значительное заражение товарной рыбы паразитическим раком *Ergasilus sieboldi* регистрировалось в мелких водоемах и отмечалось проявление заболевания эргазилозом. В то же время в водоемах с большими глубинами, куда рыба могла мигрировать в период наиболее высоких температур, болезнь не отмечалась.

По сравнению с небольшими водоемами, в крупных водоемах, где фауна гидробионтов значительно богаче, паразитофауна более разнообразна.

Однако в небольших водоемах численность отдельных видов паразитов, для которых имеются благоприятные условия, например, эктопаразитов, будет значительной. Состав паразитофауны будет значительно отличаться в водоемах с проточной и стоячей водой. В стоячих водоемах (пру-

дах, водохранилищах) накопление инвазионных стадий развития паразитов происходит быстрее, чем в проточных водоемах (реках, ручьях и др.). В прудах численность паразитов с прямым циклом развития возрастает быстрее, чем паразитов, развивающихся с промежуточными хозяевами.

Состав паразитофауны также зависит от возраста рыб, состояния их покровов, характера питания. Контроль состояния паразитофауны пресноводных рыб в первый год их жизни показал, что первыми паразитами, появляющимися на молоди, являются простейшие и гельминты с прямым циклом развития. Характер покровов в это время благоприятен для развития фауны паразитических инфузорий, жгутиконосцев и моногеней. Еще не сформировавшаяся система иммунитета у молоди рыб нередко приводит к нарушению специфичности паразитов и проявлению их патогенности. Паразиты со сложным циклом развития появляются у молоди рыб только после перехода на активное питание планктонными или бентосными организмами, среди которых имеются промежуточные хозяева многих гельминтов, что и приводит к заражению этими паразитами. Полностью формирование паразитофауны рыб во многих случаях завершается к концу первого года жизни.

Говоря о сезонных изменениях состава паразитофауны пресноводных рыб, следует отметить, что наибольшее ее разнообразие регистрируется весной, перед нерестом, и осенью. В эти периоды отмечается концентрация рыб старших возрастов в местах нереста или осеннего нагула, что облегчает их перезаражение паразитами с прямым циклом развития и распространение во внешней среде яиц, цист и других инвазионных стадий развития паразитов со сложным жизненным циклом.

В весенние месяцы при повышении температуры создаются благоприятные условия для развития паразитов с прямым циклом развития (простейшие, ракообразные, моногеней) и быстрого созревания яиц, цист и личинок.

Некоторые возбудители болезней могут быть завезены в водоемы при различных акклиматизационных мероприятиях. Завоз паразитов в новые водоемы происходит вместе с вновь завозимыми видами рыб. У туводных видов рыб в этих водоемах к данным паразитам нет иммунитета, что приводит к возникновению болезней.

В ряде рек скандинавских стран завоз с разводимой молодью лососевых рыб моногеней *Gyrodactylus salaris* привел к возникновению массовых болезней местных лососей как в естественных, так и в искусственных водоемах. В результате для ликвидации болезни пришлось полностью обезрыблить многие нерестовые реки.

Поскольку состав паразитофауны рыб формируется под влиянием конкретных условий в водоеме и наличия необходимых и строго определенных окончательных и промежуточных хозяев, паразитологические материалы можно использовать для проведения некоторых экологических анализов. По составу паразитофауны рыб и численности ее отдельных видов опреде-

ляют места обитания, нагула, видовой состав естественного корма и даже экологические условия водоема.

При выращивании рыбы в аквакультуре на рост численности паразитов большое влияние оказывают процессы интенсификации, в том числе и увеличение плотностей посадки в рыбоводных сооружениях. При этом создаются неблагоприятные условия для рыб и благоприятные для возбудителей, особенно эктопаразитов с прямым циклом развития.

Значительное влияние на эпизоотическое состояние рыбоводных хозяйств оказывает состав паразитофауны его водоисточника. При этом для гельминтов важно наличие всех звеньев цепи, т. е. окончательных и промежуточных хозяев. Например, при установке садков для выращивания лососевых в водоеме, где обитает щука, особенно опасно появление мышечного триэннофороза, вызываемого цестодой *Triaenophorus crassus*. Щука служит для этого возбудителя окончательным хозяином. Первым промежуточным хозяином являются планктонные рачки-циклопы, поедая которых лососевые — вторые промежуточные хозяева — заражаются возбудителем триэннофороза.

В летние месяцы многие паразиты со сложным циклом проходят стадию развития в промежуточных хозяевах.

Влияние факторов внешней среды проявляется как непосредственно путем их воздействия на свободноживущие стадии и на эктопаразитов, так и опосредованно через организм хозяина. Опосредованное влияние паразиты испытывают постоянно. При этом от физиологического состояния организма хозяина, состава его пищи, образа жизни, требований к воде, ее температуре и других показателей будет зависеть состав фауны паразитов и численность входящих в него видов. При этом ведущим фактором всегда остается вид хозяина и его физиологический статус в конкретных условиях того или иного водоема или рыбоводного сооружения. Наличие паразитов не всегда свидетельствует о болезни. Для проявления их патогенных свойств необходимы соответствующие условия, возникающие под влиянием, как физиологического состояния организма хозяина, так и определенных условий внешней среды. Только при наличии комплекса показателей, определяющих состояние организма хозяина, и факторов внешней среды возникает болезнь.

В водоемах такие условия создаются редко, при каких-то катастрофических изменениях условий существования (землетрясения и образование из-за завалов рек новых водоемов, глобальные изменения уровня Мирового океана и т. п.). Чаще неблагоприятные для рыб и благоприятные для паразитов условия создаются под влиянием хозяйственной деятельности человека, особенно в различных рыбоводных хозяйствах. Так, при создании водохранилищ на крупных реках при постройках гидроэлектростанций образуются большие мелководные площади, где создаются благоприятные условия для развития планктонных организмов, среди которых много промежуточных хозяев - возбудителей лигулидоза планктоноядных рыб, и для

чаек - окончательных хозяев паразита. В результате в таких водоемах возникает природный очаг этой болезни.

В прудовых хозяйствах уровень заболевания кавиозом зависит от количества обитающих в иле прудов олигохет — промежуточных хозяев возбудителя кавиоза.

Диплостомозы чаще регистрируются в хозяйствах, в которых обитают чайки - окончательные хозяева возбудителей и много брюхоногих моллюсков - первых промежуточных хозяев возбудителя.

В рыбоводных хозяйствах эпизоотическое состояние зависит и от ряда рыбоводных показателей для планируемых объектов выращивания, соблюдения биотехники рыборазведения, в частности плотностей посадки рыбы и обеспечения их качественным кормом. Ослабление организма хозяина неблагоприятными условиями выращивания приводит к проявлению патогенности паразитов и возникновению болезней. Однако имеется ряд паразитов, патогенность которых проявляется в любых условиях. Такой возбудитель, как ихтиофтириус, поражает рыб с любым физиологическим статусом и может стать причиной массовых отходов.

При проведении различных противоэпизоотических мероприятий в рыбоводных хозяйствах необходимо помнить, что ихтиопатологический мониторинг за выращиваемой рыбой позволит рекомендовать эффективные и экологически чистые мероприятия для борьбы с паразитами. Знание циклов развития возбудителей, их требований к условиям внешней среды позволит осуществлять простые рыбоводные приемы для снижения ущерба от болезней.

При планировании оздоровительных работ необходимо шире использовать такие природные факторы, как инсоляцию в южных регионах и промораживание в северных, для ликвидации свободноживущих стадий паразитов, находящихся в воде и на ложе прудов, а также стенках рыбоводных сооружений. Данные об эпизоотическом состоянии рыбоводных хозяйств помогут правильно планировать посадку рыбы на выращивание и предотвращать занос возбудителей в благополучные хозяйства.

РОЛЬ ПАРАЗИТОВ В ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ

Как и у свободноживущих животных, популяция паразитов определяется как совокупность особей одного вида, обладающая общим генофондом и занимающая определенную территорию. Популяция паразитов тесно связана с популяциями своих хозяев и может существовать только вместе с ними. Соответственно условно можно говорить о популяциях определенных биотопов, отдельных рыбоводных сооружений или даже отдельных рыб. Такая рубрикация может быть использована при обсуждениях определенных ситуаций, складывающихся на водоемах или в рыбоводных хозяйствах.

Поскольку паразиты рыб тесно связаны со своими хозяевами общими требованиями к условиям экологических биотопов, они составляют такие же популяции, как и их хозяева. При этом существование тех или иных популяций паразитов регулируется наличием необходимых для них условий: температурой воды, характером водоема или особенностями рыбоводного хозяйства, состоянием популяции промежуточных и дефинитивных хозяев и физиологическим статусом составляющих ее особей. Отсюда возможно существование холодноводных или тепловодных популяций паразитов в зависимости от температуры воды в водоемах или рыбоводных сооружениях. Численность популяций паразитов будет зависеть от размеров водоема и наличия необходимых экологических условий. В больших водоемах численность популяций эндопаразитов может быть более значительной, чем в небольших, так как в них разнообразнее экологические ниши, в том числе видовой состав гидробионтов, являющихся промежуточными хозяевами многих видов паразитов. В то же время численность популяций эктопаразитов в небольших водоемах или рыбоводных сооружениях может быть большой, так как для роста их численности и перезаражения хозяев создаются благоприятные условия именно в небольших водоемах.

Паразиты разных видов, так же как и свободноживущие животные, могут образовывать биоценозы (паразиоценозы). Однако их нельзя рассматривать изолированно от хозяев, так как в системах паразит-хозяин оба сочлена очень тесно связаны друг с другом, и необходимо учитывать влияние внешней среды, а также паразитов и хозяев друг на друга.

Рассматривая значимость паразитов в природных и искусственных экосистемах, следует отметить, что они играют значительную роль в регуляции численности своих хозяев. Можно сказать, если определенный биотоп (или рыбоводное сооружение) не способно выдержать больше определенного количества особей, их физиологический статус снижается, и создаются благоприятные условия для развития паразитов, которые, увеличиваясь численно, приводят к возникновению болезни и гибели «лишних» особей. Как правило, инвазий у рыб, находящихся в хорошем физиологическом состоянии и содержащихся в благоприятных условиях выращивания, не возникает.

МЕТОД ПОЛНОГО ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО ВСКРЫТИЯ РЫБ

Для оценки эпизоотической ситуации на водоёме исследование рыб проводят по методу полного паразитологического вскрытия. Этот метод, разработанный проф. Догелем В.А., был дополнен его учениками и последователями. Для исследования отбирают живых или погибающих рыб всех возрастных категорий в следующих количествах: личинок и мальков не менее 25 экземпляров, сеголетков 15-25, годовиков и всех рыб остальных возрастных групп по 15 экземпляров. Необходимость вскрытия именно такого количества рыб, при котором результаты исследования статистически до-

стоверны, обоснованы Г.К. и М.Г. Петрушевскими в их работе (Петрушевский, Петрушевская, 1960). В некоторых случаях (регулярные наблюдения, исследование рыб, получающих искусственные корма, однотипность паразитофауны и т.п.) достаточно неполное паразитологическое вскрытие рыб. Результаты исследований вносят в рабочий журнал, где указывают дату, место вылова, пол, возраст, вес и длину рыбы, с данными паразитологического исследования с предварительным и окончательным определением вида найденных паразитов. Обездвиживание рыбы проводят путем разрушения спинного мозга с помощью препаровательной иглы или ножницами, делая надрез спины за головой до позвоночной артерии. Для обездвиживания рыбы можно использовать анестетики.

Длину рыбы измеряют от конца рыла до конца чешуйного покрова (АВ) и до конца хвостового плавника (АД). Лососевых рыб измеряют от конца рыла до развилки хвостового плавника (АС). Толщину рыбы измеряют штангенциркулем.

Для определения возраста рыб берут несколько чешуек в районе спины, на которых считают годовые кольца. У безчешуйных рыб берут отоли- ты, и после обработки их в молочной кислоте или на спилах считают годовые кольца. Чешую и отоли- ты рыб можно хранить длительное время, сопроводив подробной этикеткой (рис. 2).

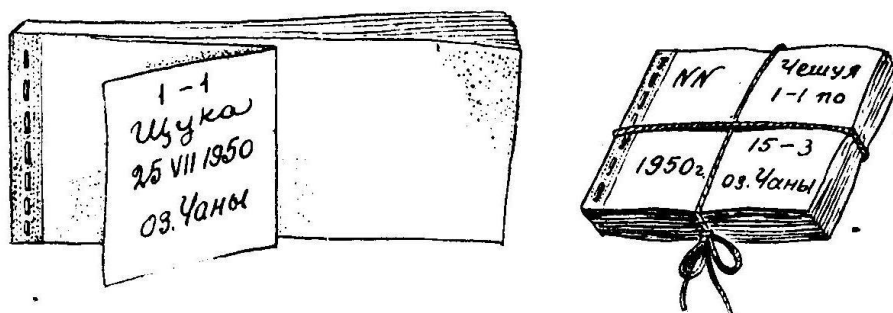


Рисунок 2. Чешуйная книжка.

При вскрытии рыб необходимо придерживаться следующей схемы. Сначала осматривают ткани или органы, обращая внимание на их цвет, размер, форму, консистенцию и наличие патологических признаков, снимая видимых невооруженным глазом паразитов. Затем ткани и органы исследуют компрессионным методом под микроскопом МБС. Для этого необходимо перенести ткань или орган на стекло 9 x 12 см, разделить на небольшие кусочки, продавливая предметным стеклом. Предметное стекло удобнее держать так, чтобы 1/3 или 1/4 стекла выступала за пределы большого стекла, как рукоятка, с помощью которой его легче сдвигать при нахождении паразита. После этого небольшой кусок продавленной ткани переносится на предметное стекло, накрывается покровным и просматривается под микроскопом при малом (10 x 20) и большом (10 x 40) увеличении.

1. ПОРЯДОК ИССЛЕДОВАНИЯ

1.1. Полное паразитологическое исследование рыб проводят в следующем порядке: кровь, кожа, плавники, носовая и ротовая полости, жабры, желчный и мочевой пузыри, брюшная полость, почки, сердце, пищеварительный тракт, печень, селезенка, гонады, головной и спинной мозг, хрящи, мышцы, глаза (рис. 3).

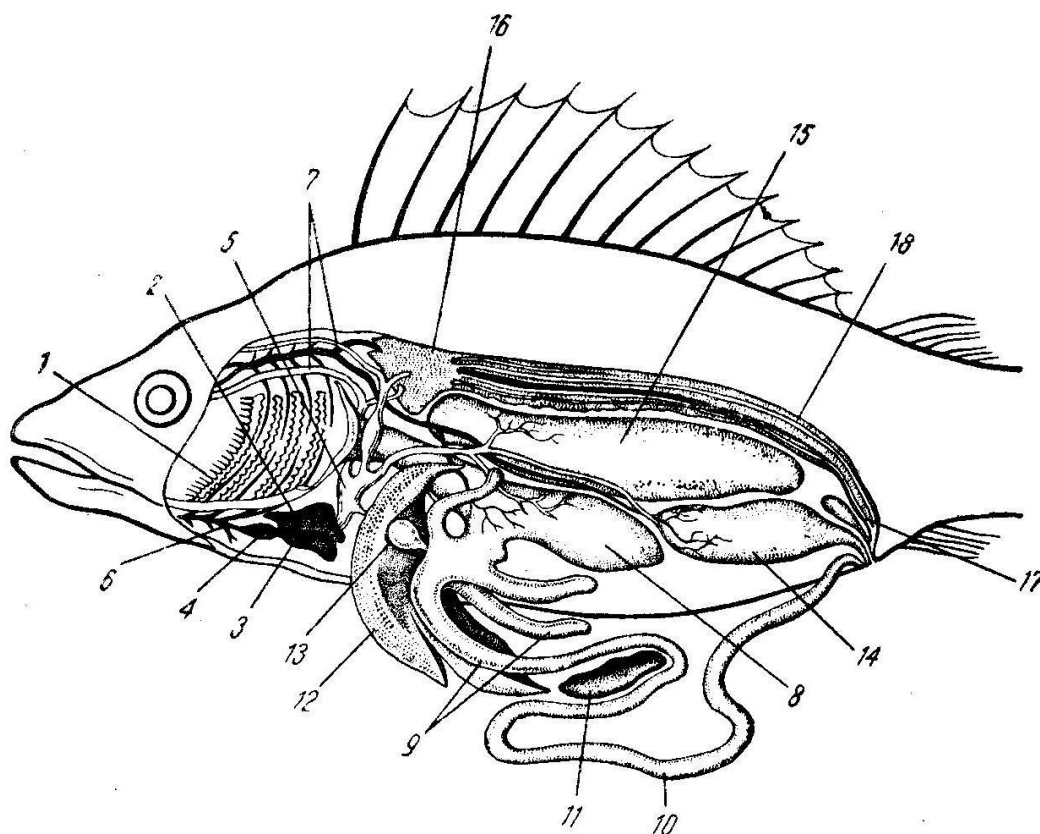


Рисунок 3. Анатомия окуня (схема):

1 - жаберная полость с жабрами; 2 - предсердие; 3 - желудочек; 4 - луковица аорты; 5 - венозный синус; 6 - брюшная аорта; 7 - передние кардинальные вены; 8 - желудок; 9 - пилорические придатки; 10 - тонкая кишка; 11 - селезенка; 12 - печень; 13 - желчный пузырь; 14 - половая железа; 15 - плавательный пузырь; 16 - почка; 17 - мочевой пузырь; 18 - почка.

1.2. Для внешнего осмотра рыбу кладут в кювету. С поверхности тела снимают видимых простым глазом пиявок (рис. 4), рачков, глохидий. Чёрные пятна на теле карповых рыб могут заключать в себе цисты с личинками сосальщика *Posthodiplostomum cuticola*. В толще чешуи и на плавниках рыб Дальневосточного комплекса паразитируют метацеркарии *Metagonimus yokogawai* (рис. 5). В чешуйных кармашках карпов всех возрастов паразитирует нематода *Philometroides lusiana*. Необходимо отмечать все найденные патологические признаки (повреждения, язвы, опухоли, пятна, налёт, сильное ослизнение, отсутствие слизи на коже рыбы и т.д.).

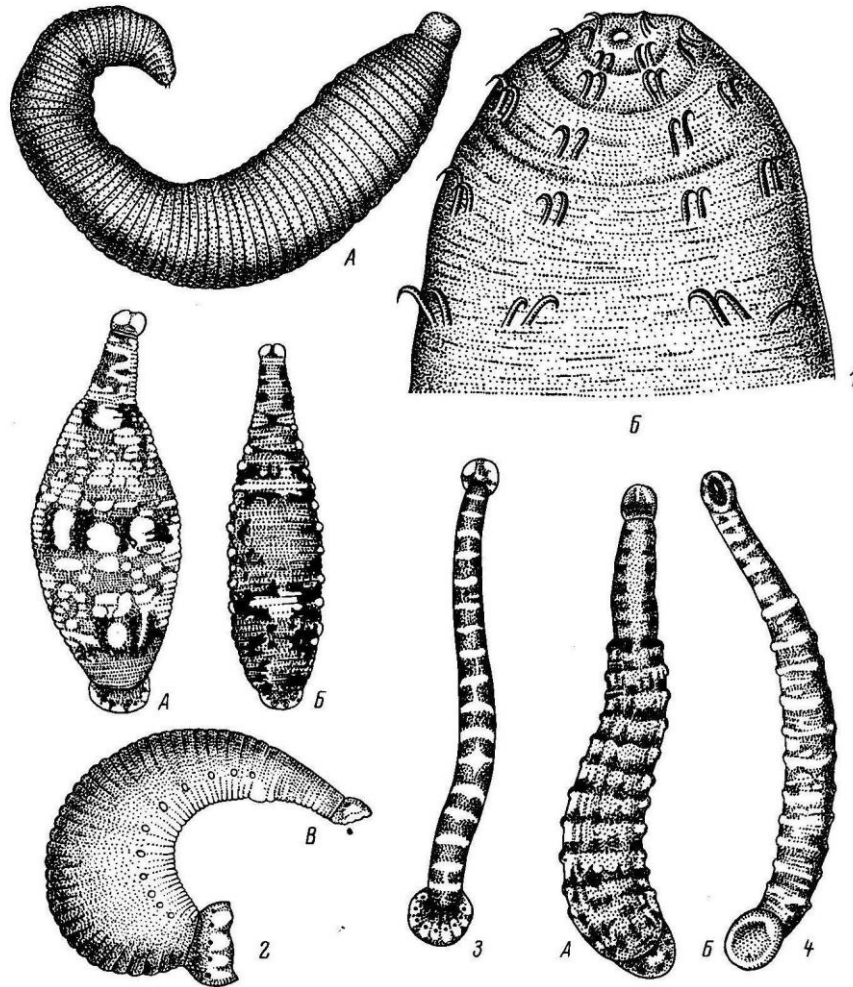


Рисунок 4. Паразитические пиявки:

**1 – *Acanthobdella peledina*: А – общий вид, Б – передний конец;
 2 – *Trachelobdella torquata*: А, Б – вид со спины, В – сбоку; 3 – *Piscicola geometra*; 4 –
Piscicola fadejewi: А – вид со спины, Б – с брюшной стороны.**

1.3. Для обнаружения кровепаразитов кровь берут пастеровской пипеткой из сердца, жаберной или хвостовой артерии и делают мазки (Крылов, 1974). Для предотвращения свёртывания крови и закупорки её в тонкой части пипетки, пипетку необходимо промывать лимоннокислым натрием. Мазок делают тонким шлифованным стеклом. Для этого на край обезжиренного стекла наносят каплю крови. Шлифованным стеклом касаются капли, которая растекается вдоль края стекла. После этого медленно продвигаем стеклом каплю к другому краю стекла, для того чтобы элементы крови растеклись в один слой (рис. 6). Препарат подсушивают, фиксируют, с этикеткой хранят сухими до окрашивания. В крови рыб могут паразитировать простейшие (жгутиконосцы родов *Trypanosoma* и *Cryptobia*, вегетативные стадии миксоспоридий) и гregarины.

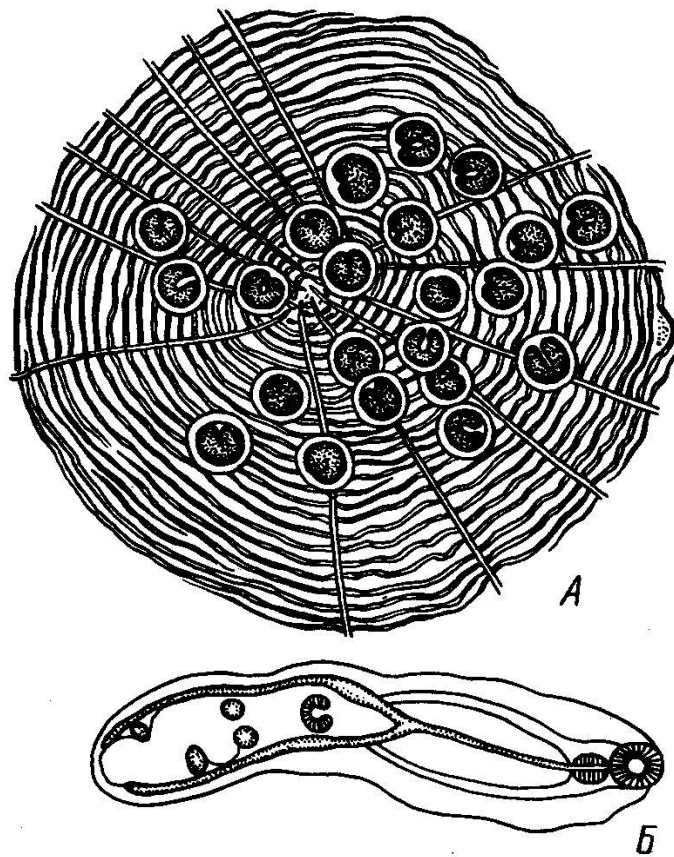


Рисунок 5. Центральная часть чешуи головы, поражённая метацеркариями *Metagonimus yokogawai* (А) и освобождённая из цисты личинка (Б).

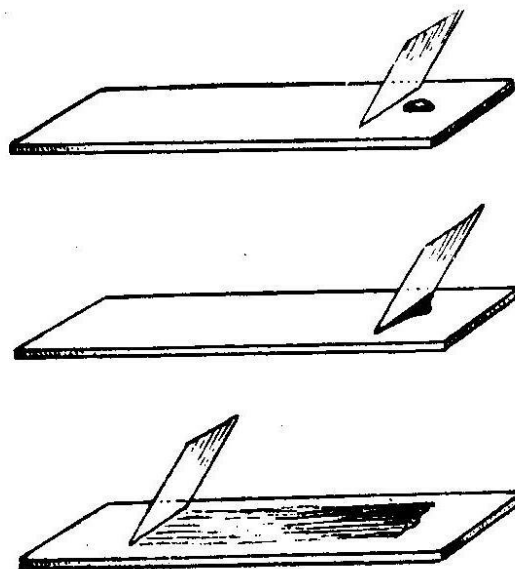


Рисунок 6. Изготовление сухого мазка крови рыб.

1.4. Подсчет количества крупных паразитов (рачков, гельминтов, глосидий, цисты микроспоридий) проводят в абсолютных числах, а мелких (инфузорий и других простейших) – в относительных. То есть подсчитывают количество паразитов в десяти полях зрения микроскопа и определяют средний показатель. При этом высчитывают экстенсивность и интенсивность инвазии, индекс обилия по каждому паразиту в отдельности для каждого вида и возраста рыб.

1.5. Обнаруженных паразитов необходимо фиксировать, этикетировать и сохранять для дальнейшей камеральной обработки (рис. 7).



Рисунок 7. Материальная банка с пробирками.

1.6. Для измерения величины паразитов или их частей пользуются измерительным окуляром (окуляр-микрометр). Внутри такого окуляра вложена стеклянная пластинка с нанесённой на ней шкалой из равных делений. Для того, чтобы применять окуляр-микрометр для измерений абсолютных величин, необходимо выяснить значение его деления в микрометрах, величина которого меняется в зависимости от взятого объектива и длины тубуса микроскопа. Расчёт производят с помощью объект-микрометра - специального предметного стекла с точно нанесённой шкалой, каждое деление которой равно 0,01 мм. Положив объект-микрометр на столик микроскопа, уста-

навливают его чёточки параллельно с чёточками окуляр-микрометра и совмещают каких-либо два крайних деления того и другого. После этого отсчитывают, скольким делениям окуляр-микрометра соответствует число делений объект-микрометра. Если, например, 2 деления объект-микрометра совпадают с 12 делениями окуляр-микрометра, то значение одного деления будет равно 1,6 мкм. К каждому микроскопу рассчитывают и составляют свою постоянную таблицу значений делений окуляр-микрометра, при разных увеличениях объектива и при определённой длине тубуса.

2. ИССЛЕДОВАНИЕ КОЖНОГО ПОКРОВА РЫБ, ПЛАВНИКОВ, НОСОВОЙ И РОТОВОЙ ПОЛОСТЕЙ.

Кожа рыб состоит из нескольких слоёв. Верхний слой – эпидермальный – состоит из многослойного эпителия, в котором расположены клетки, выделяющие слизь. Чешуя находится в чешуйных кармашках среди эпителиальных клеток, предохраняя кожу от механических повреждений. Нижний слой кожи (подкожная клетчатка) образован из косо проходящих волокон соединительной ткани, среди которых проходят кровеносные сосуды и нервные волокна. Пигментные клетки (хроматофоры) разбросаны как в верхнем слое, так и на границе между эпидермальным слоем и подкожной клетчаткой. При многих болезнях происходит нарушение пигментации и поверхность тела (кожа) рыб темнеет или светлеет.

2.1. При наружном осмотре кожного покрова и плавников рыб собирают, предварительно определяют и фиксируют всех паразитов, видимых невооружённым глазом (цисты миксоспоридий, микроспоридий, глохидии, паразитические ракообразные, пиявки и др.). Затем делают соскоб с поверхности тела. Его кладут на предметное стекло, добавляют в него воду, накрывают покровным стеклом и просматривают под микроскопом МБС, при малом (видны триходины, хилодонеллы, апиозомы, ихтиофтириусы, моногеней и др.), и большом (видны костии, жгутиконосцы, споры миксоспоридий и др.) увеличениях. У молоди рыб первого года жизни мазок слизи берут со всей поверхности тела, у годовиков и старше – с нескольких участков тела.

2.2. Плавники отрезают, кладут на стекло в капле воды и просматривают под микроскопом МБС, растягивая иглками. Между лучами могут быть цисты миксоспоридий, цисты *Dermocystidium*, метацеркарии трематод, паразитические раки, глохидии. Далее делают соскоб и просматривают его под микроскопом при малом и большом увеличениях (видны простейшие).

2.3. В носовой полости рыб возможно нахождение паразитических простейших, рачков *Paraergasilus rylovi*, мелких моногеней. В носовые ямки крупных рыб пипеткой впрыскивают воду, оттягивая обратно с водой слизь с паразитами. У молоди рыб носовые ямки малы и труднодоступны. С.С. Юхименко (1972) предложил следующий метод исследования носовых полостей мелких рыб. Следует под контролем микроскопа МБС, придерживая голову рыбы, препаровальной иглой разорвать носовую перегородку и сделать несколько круговых движений внутри полости, подрезая и наматы-

вая слизь на иглу. Комочки слизи исследуют на предметном стекле в капле воды.

2.4. В ротовой полости можно обнаружить трематод (*Azygia lucia* при гибели щуки выходит из кишечника в ротовую полость), рачков, пиявок, моногеней, метацеркарий трематод и простейших. Для нахождения последних необходимо сделать мазок и просмотреть его под микроскопом при малом и большом увеличении.

3. ИССЛЕДОВАНИЕ ЖАБР

Жабры располагаются по обе стороны головы. С каждой стороны находится по четыре жаберные дуги, к которым прикрепляются жаберные пластинки. К глотке от жаберной дуги отходят тычинки, которые фильтруют воду. Тычинки хорошо развиты у планктоноядных рыб, образуя сложно устроенный цедильный аппарат. С наружной стороны к дуге прикрепляются жаберные лепестки первого порядка, от которых отходят лепестки второго порядка. В лепестках проходят кровеносные сосуды и капилляры. Через однослойный жаберный эпителий рыбы поглощают растворённый в воде кислород, минеральные вещества, выделяют углекислоту и продукты азотистого обмена (аммиак).

Основой жаберного аппарата являются жаберные дуги (костная основа). К ним прикрепляются жаберные лепестки первого порядка; по всей их длине проходит тонкий хрящевой тяж, составляющий скелетную опору, с внутренней стороны к его основанию прикрепляются пучки поперечно-полосатых мышц, своим сокращением они приводят в движение лепестки. Вдоль жаберных дуг проходят приносящие и выносящие кровеносные сосуды. В этих лепестках происходит чрезвычайно важный для жизни рыбы процесс обмена газами. Каждый жаберный лепесток первого порядка имеет в свою очередь много жаберных лепестков второго порядка. Жаберные лепестки второго порядка покрыты респираторным эпителием.

Щитовидная железа расположена у рыб по ходу аорты и жаберных артерий. Она не представляет собой компактного органа – её фолликулы различного размера разбросаны группами. Клетки фолликулярного эпителия изменяют свою форму в зависимости от сезона года от почти плоского до кубического эпителия. В полостях фолликулов содержится коллоид. Фолликулы разделены между собой соединительнотканными прослойками, по которым проходят кровеносные сосуды.

3.1. Вырезают жаберную крышку и просматривают её с внутренней стороны, где могут находиться нематоды, моногении, рачки.

3.2. Жаберные дуги вырезают, помещают в чашку Петри по порядку, так как на разных жаберных дугах количество паразитов различно. Собирают видимых паразитов, их подсчитывают и фиксируют. Затем препаровальными иглами перебирают жаберные лепестки под микроскопом МБС для нахождения моногеней, цист миксоспоридий, цист дермоцистидиум, личинок трематод, рачков и др. паразитов. После этого делают соскоб с жабер-

ных лепестков на предметное стекло в капле воды, накрывают его покровным стеклом и просматривают под микроскопом при малом и большом увеличении (видны простейшие, споры миксоспоридий, микроспоридии).

4. ИССЛЕДОВАНИЕ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ И ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ

Рыбу следует класть головой к левой руке исследователя, чтобы при её вскрытии не повредить мочевой пузырь. Сначала делают поперечный разрез в районе грудных плавников, далее продольным разрезом вскрывают брюшную стенку. Ножницы держат так, чтобы их тупой конец был внизу и чуть приподнят и, не доходя до анального отверстия рыбы, их следует повернуть в сторону спины до основания ребер. Затем, разрезая боковую часть тела рыбы, доводят ножницы до грудных плавников. Выделив пузыри, рыбу накрывают влажной марлей, чтобы она не подсыхала.

4.1. Желчный пузырь.

Желчный пузырь овально-грушевидной формы, примыкает к печени и соединён с кишечником желчным протоком, который у карповых рыб впадает в передний отдел кишечника, а у лососевых – вблизи соединения желудка и кишечника.

Зажав пинцетом желчный проток, аккуратно отделяют желчный пузырь от печени, и помещают его на предметное стекло. Осторожно разрезают стенку пузыря. Делают соскоб с внутренней стенки пузыря на предметное стекло, накрывая его покровным, просматривают под малым и большим увеличением микроскопа (видны жгутиконосцы, споры и плазмодии миксоспоридий, метацеркарии трематод). Добавлять воду на стекло не следует, т.к. плазмодии миксоспоридий при нарушении осмотического давления разрываются. Желчь также просматривают под микроскопом.

4.2. Мочевой пузырь.

Для выделения мочевого пузыря, необходимо пинцетом захватить мочевые канальца, которые располагаются внутри почек и вести их до ануса, где они сливаются. У мелких карповых рыб нужно вынуть концы мочеточников и прямой кишки и под контролем микроскопа МБС отделить мочевой пузырь. Мочевой пузырь разрезают и делают соскоб с внутренней стороны, просматривают при малом и большом увеличении микроскопа. В мочевом пузыре рыб могут паразитировать миксоспоридии, трематоды, триходины. В мочеточниках встречаются трематоды рода *Phyllodistomum*.

4.3. Вскрытую брюшную полость только после извлечения желчного и мочевого пузыря, осматривают, при обнаружении крупных паразитов (лигула, амфилина и др.) их извлекают и фиксируют для дальнейшего изучения (рис. 8). В брыжейках рыб можно найти метацеркарии трематод, личинок дифиллоботриумов. Затем из брюшной полости извлекают внутренние органы, раскладывают их в чашки Петри, смочив водой.

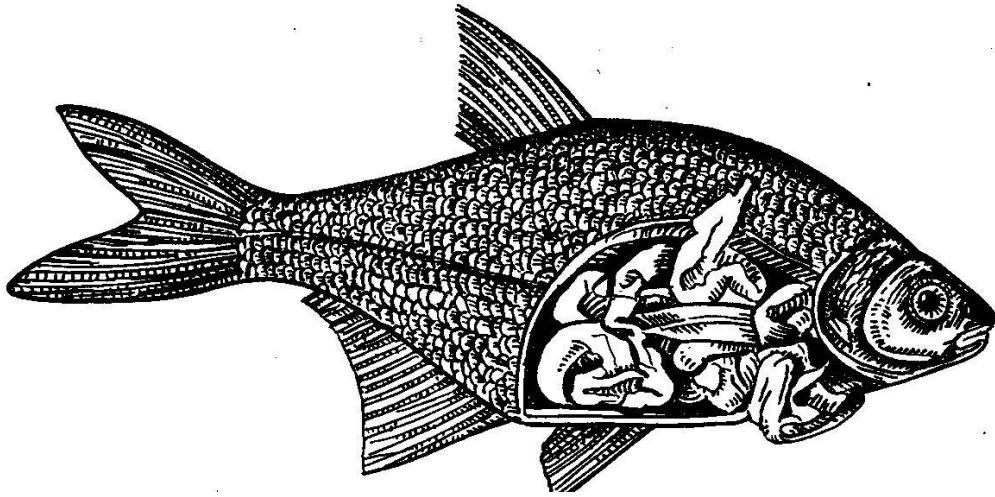


Рисунок 8. Лещ, поражённый ремнецами

4.4. Сердце.

Расположено позади последней пары жаберных дуг, отделённой от общей полости тела соединительнотканной перегородкой. Обратный ток крови предупреждается наличием клапанов во всех трёх отверстиях между желудочком, предсердием и венозным синусом. Стенка сердца состоит из трех оболочек: эпикарда, миокарда и эндокарда. Эпикард состоит из двух слоёв – мезотелия и подстилающей его тончайшей сети эластических волокон. Миокард включает в себя сплошную сеть переплетающихся между собой полосатых мышечных волокон, а эндокард – слой плоских эндотелиальных клеток, прилегающих к сетке тончайших эластических волокон.

Сердце рыб заключено в окологердечную сумку, состоит из двух камер (предсердие, желудочек). Продолжением желудочка является луковичеобразно расширенный *Bulbus arteriosus*. От основания аорты с каждой стороны отходит по четыре сосуда к жабрам, которые, выходя из жабр, вновь сливаются, разнося обогащённую кислородом кровь по телу рыбы.

На поверхности сердца рыб можно обнаружить личинок трематод, цисты миксоспоридий. Вскрывают полость сердца, содержимое синуса и желудочка, а также стенку органа, просматривают под микроскопом МБС компрессионным методом. В крови можно обнаружить трематод рода *Sanguinicola*.

4.5. Пищеварительный тракт.

Рыбы делятся на желудочных и безжелудочных. У хищных рыб желудок подразделяется на переднюю (кардиальную) и заднюю (пилорическую) части. Пилорическая часть снабжена мешковидными отростками, называемыми пилорическими придатками. Число их колеблется в очень широких пределах: так у окуня их 3, у форели – 40-50, у лосося – 180. Их назначение – увеличение всасывающей поверхности. Среди пилорических отростков открываются протоки печени и поджелудочной железы. Карповые рыбы не имеют желудка, а печень и поджелудочная железа образуют единый орган –

гепатопанкреас.

Поджелудочная железа рыб имеет два морфофункциональных компонента: экзогенный и эндогенный.

Клетки экзогенной части носят название ацинарных клеток, расположены по 30-50 штук. Форма клеток – призматическая. В ацинарных клетках выявлены две зоны: базальная и апикальная. Клетки апикальным концом обращены к просвету ацинуса. Базальная часть клеток соединена с мембраной. В базальной части клетки располагается ядро с очень крупным ядрышком в центре. Хроматин в кариолимфе распределён по ядерной оболочке и около ядрышка. Вокруг ядра располагается четко базофильная цитоплазма, а апикальный конец клетки заполнен зимогенными гранулами разной величины. Гранулы зимогена содержат различные ферменты в неактивной форме (проферменты), которые можно обнаружить биохимически в соке поджелудочной железы. Группы ацинарных клеток имеют свои выводные протоки, которые чаще всего впадают в желчный проток или около него в кишечник.

Эндокринная часть железы образует островки Лангерганса различной величины и формы. Островки отделены от ацинарной ткани тонкой соединительнотканной капсулой. Строму островков образует ретикулярная ткань. Просветы капилляров отделены от островковых клеток эндотелием, базальной мембраной и соединительнотканными элементами, в том числе клетками типа фибробластов. У млекопитающих, птиц, рептилий и рыб клетки островков Лангерганса морфологически неодинаковы. Имеются несколько типов клеток. А-клетки каплевидной или неправильной формы, лежат поодиночке или группами по периферии островков. В-клетки имеют вытянутую форму и локализованы небольшими группами в центральной части островков. Д-клетки с наибольшим количеством цитоплазмы расположены группами преимущественно в центре островков, отдельные из них – встречаются в экзокринной паренхиме. А-клетки вырабатывают гипергликемический фактор – глюкагон, а В-клетки вырабатывают инсулин – гормон, понижающий содержание сахара в крови, являющийся, следовательно, гипогликемическим фактором. Инсулин стимулирует транспорт веществ через межклеточные мембраны, угнетает секрецию глюкагона, оказывает стимулирующее влияние на линейный рост, необходим для развития организма. Гормоны эндокринных клеток поджелудочной железы оказывают влияние на секрецию ацинарных клеток поджелудочной железы и других гормонов желудочно-кишечного тракта. Соматостатин играет важную роль в осуществлении паракринного контроля внутри островков. Он тормозит выделение глюкагона и инсулина.

Содержание глюкозы в крови у рыб поддерживается на определённом, относительно постоянном для каждого вида уровне. Рыбы обладают значительными резервами углеводов в печени и мышцах. Размеры резервов являются величиной лабильной. Уровень гликемии у рыб легко смещается под влиянием целого ряда факторов, как внутренних, так и внешних. К числу этих факторов относятся сдвиги в температуре воды и содержании в ней

кислорода, стресс при поимке и транспортировке, отсутствие питания, стадия полового или миграционного цикла и т. д. Рыбы обладают способностью адаптироваться к измененным условиям среды, после чего уровень их гликемии вновь становится устойчивым. Регулирование уровня содержания глюкозы в крови осуществляется сбалансированным разнонаправленным действием инсулина и глюкагона. Глюкагон участвует в регуляции обмена углеводов, белков и липидов, стимулирует процессы распада в клетках.

Стенка кишечной трубки у рыб состоит из трех оболочек: слизистой, мышечной и серозной.

Следует разделить пищеварительный тракт на пищевод, желудок, кишечник и просматривать их раздельно. Каждый участок аккуратно разрезают вдоль и его содержимое просматривают компрессионным методом под микроскопом МБС. При этом извлекают всех червей в солонку, их промывают и фиксируют спиртом для дальнейшего изучения, определения. Затем скальпелем делают соскоб со слизистой кишечника и его просматривают под большим увеличением микроскопа (видны кокцидии, миксоспоридии). Содержимое кишечника также просматривают под микроскопом.

4.6. Печень.

Масса, плотность и цвет печени колеблются в зависимости от вида рыб, их половой зрелости, характера питания и качества пищи. У большинства рыб печень имеет красно-коричневую окраску и упругую консистенцию. У хищных рыб она располагается в передней части брюшной полости и четко обособлена. У карповых рыб печень многолопастной формы, находится между петлями кишечника. Печень рыб является пищеварительной железой, выделяющей желчь. Она также выполняет барьерную и метаболическую функции (участвует в белковом, углеводном и жировом обменах, создает запасы гликогена и жира).

Выполнение этих сложных и важных для организма функций обеспечивается работой клеточных элементов паренхимы печени – гепатоцитов.

Печень у костистых рыб имеет трубчатое строение, которое на гистологических срезах представлено в виде балок. Балки состоят из многоугольных, тесно примыкающих друг к другу клеток. Печёночные балки тесно перепиваются с синусоидными капиллярами. Междольковые желчные протоки вместе с разветвлением воротной вены и печёночной артерии образуют между печёночными дольками триады. Кроме триад встречаются одиночные собирательные вены.

На поверхности печени рыб можно обнаружить белые цисты ленточных червей, личинок трематод, круглых червей. Печень исследуют компрессионным методом под микроскопом МБС (видны цисты миксоспоридий).

4.7. Селезёнка.

Селезёнка рыб – орган изоляции возбудителей болезней, депо эритроцитов. Она располагается либо сразу за желудком (лососевые), либо между петлями кишечника и печенью (карповые).

Паренхима селезёнки сиговых рыб содержит кровеносные сосуды, эллипсоиды, красную пульпу, лимфоидную ткань (белая пульпа), макрофаги. В селезёнке костистых рыб нет настоящего разделения пульпы на красную и белую. Кровоток в селезёнке рыб "открытый", т.е. артериальное русло оканчивается свободно и кровь выходит в межклеточные, не ограниченные эндотелием пространства ретикулярного синцития, и лишь затем собирается в венозную систему. Ретикулярная соединительная ткань содержит в большом количестве лимфоциты.

Исследуют компрессионным методом под микроскопом МБС. В селезёнке рыб можно обнаружить метацеркарии трематод, личинки нематод, цисты миксоспоридий.

4.8. Гонады.

Семенник у костистых рыб разделяют на 2 типа: ацинозный или циприноидный (у карповых и лососевых), и радиальный или перкоидный (у окунёвых). Семенник покрыт капсулой, состоящей из плотной неоформленной соединительной ткани, которая снаружи одета мезотелием. От капсулы внутрь органа вырастают соединительнотканые тяжи, разделяющие семенник на множество камер. Внутри этих тяжей располагаются кровеносные сосуды. На поперечном срезе семенника циприноидного типа камеры имеют вид округлых образований, в которых располагаются многочисленные извитые семенные каналцы разной величины и формы. В них происходит созревание половых клеток. Внутри каналцев расположены половые клетки на разных фазах своего развития и фолликулярные клетки, выполняющие опорную и трофическую функции.

Яичник у рыб образован складками перитонеального эпителия, представляющего собой продолжение мезотелия, выстилающего полость тела. Основу каждой складки составляет соединительная ткань с расположенными в ней сосудами разного калибра.

Исследуют компрессионным методом и просматривают под микроскопом МБС (видны цисты миксоспоридий, полиподиумов, плероцеркоидов ленточные черви, метацеркарии трематод), малым и большим увеличениями микроскопа (видны микроспоридии, миксоспоридии). Икринки осетровых рыб, заражённые полиподиумом, крупнее и темнее здоровых. Икринки осетровых рыб, поражённые микроспоридиями рода *Cossoneta*, крупнее здоровых, грязновато-белого цвета. Содержимое заражённой икринки – белая мутная жидкость со спорами микроспоридий.

4.9. Плавательный пузырь

Плавательный пузырь находится в верхней части полости тела рыб под позвоночником, заполнен воздухом. У лососевых рыб он вытянут вдоль полости тела в виде трубковидного образования, а у карповых состоит из двух неравных камер, разделённых перемычкой. У некоторых рыб плавательный пузырь соединяется с передней кишкой (лососевые, карповые), а у других - замкнут (окунёвые).

Осматривают, разрезают и делают соскоб с внутренней поверхности,

которой просматривают под микроскопом МБС, малым и большим увеличениях микроскопа (видны миксоспоридии, метацеркарии трематод, нематоды).

4.10. Почки.

Почки у рыб находятся в полости тела вдоль позвоночника. Они состоят из трёх отделов. Передняя почка расположена за жабрами у позвоночника в виде двух плотных образований, где формируются клетки крови. Средняя и задняя почки расположены вдоль позвоночника и выполняют выделительную функцию. Головная часть почки состоит сплошь из лимфоидной ткани. Прослойки гемопоэтической ткани имеются и между извитыми канальцами в туловищной и хвостовой частях. Основу головной почки составляет ретикулярная ткань. В гемопоэтической ткани обнаруживаются также эозинофильные лейкоциты, которые располагаются небольшими группами. Встречаются также полиморфноядерные лейкоциты с незернистой цитоплазмой. Местами можно отметить присутствие эритроцитов, а также эритробластов разных генераций. Туловищный и хвостовой отделы почки состоят из капилляров и почечных канальцев.

Структурной и функциональной единицей в почке сиговых рыб служит нефрон. Началом нефрона считается боуменова капсула. Стенка ее состоит из двух лепестков: наружного с вытянутыми ядрами и внутреннего, капсула которого тесно срастается с клубочком капилляров. От клубочка идет отдел сильно извитых канальцев, которые оплетают мальпигиево тельце (боуменову капсулу с расположенным в ней клубочком капилляров). Эпителиальные клетки, образующие стенку канальцев, кубические, ядра их округлые, с отчетливо выраженными глыбками хроматина. На апикальном конце клеток хорошо выражена щетковидная каёмка. За проксимальным канальцем следует дистальный каналец, который постепенно сменяется собирательными трубочками, диаметр которых варьирует. Собирательные трубочки не относятся к нефрону, а являются выводными протоками, в которые поступает моча из дистальных извитых канальцев. За собирательными трубочками идут выводящие протоки с наиболее широким диаметром просвета и светло-окрашиваемым эпителием. Они впадают в мочеточник, выстланный призматическим эпителием.

Исследуют компрессионным методом, просматривают под микроскопом МБС (видны метацеркарии трематод, цисты миксоспоридий) и малом и большом увеличениях микроскопа (видны споры и плазмодии миксоспоридий, жгутиконосцы, триходины).

5. ИССЛЕДОВАНИЕ ГОЛОВНОГО И СПИННОГО МОЗГА

Головной мозг рыб небольшого размера имеет линейное расположение частей. Делится на несколько отделов: передний, промежуточный и средний мозг, мозжечок и продолговатый мозг.

Головной и спинной мозг рыб исследуют компрессионным методом

под микроскопом для обнаружения в них миксоспоридий, микроспоридий, метацеркарий трематод.

6. ИССЛЕДОВАНИЕ ХРЯЩЕЙ

Для обнаружения миксоспоридий *Myxosoma cerebralis* – паразита молодого первого года жизни лососевых рыб компрессионным методом исследуют черепные и межпозвоночные хрящи. Для выделения спор необходимо мелко раскрошить (растереть в ступке) хрящи, залить водой и просмотреть вытяжку под микроскопом.

7. ИССЛЕДОВАНИЕ МЫШЦ

Туловищные мышцы рыб состоят из белой и красной мускулатуры. Среди мускульных волокон проходят кровеносные сосуды, нервы.

У головы рыб надрезают кожу и снимают ее как чулок, открывая мышечную ткань. Скальпелем делают поперечные разрезы до хребта, отворачивая слой мышц, просматривают их, как будто листовая страница (видны цисты миксоспоридий, личинки червей). Затем небольшие куски мышц исследуют компрессионным методом под микроскопом МБС (видны личинки трематод, личинки нематод, цисты миксоспоридий), малом и большом увеличении микроскопа (видны споры миксоспоридий, метацеркарии *Opisthorchis felinus*, плероцеркоиды *Diphilobothrium latum*).

8. ИССЛЕДОВАНИЕ ГЛАЗ

Глаз рыб состоит из глазного яблока и поддерживающих его мышц и связок. Глазное яблоко снаружи покрыто однослойным эпителием, внутри выстлано ретиной или сетчаткой. Радужная оболочка глаза прикрывает сферический хрусталик, расположенный внутри глазного яблока, удерживающийся в нём сократительными мышцами. Хрусталик окружён капсулой. Непосредственно за капсулой лежит слой эпителиальных клеток, продуцирующих волокнистые клетки. Молодые волокнистые клетки образуют кору хрусталика, старые – центр. Некоторые формы катаракт развиваются в волокнистых клетках хрусталика. Сетчатка глаза простирается до радужной оболочки, содержит кровеносные сосуды. В полости глазного яблока находится стекловидное тело – студенистая масса, снабжаемая кровеносными сосудами.

Из впадины извлекают глазное яблоко, кладут его в солонку и аккуратно разрезают. Извлекают хрусталик, стекловидное тело и содержимое передней камеры глаза, раскрывают отдельно на предметном стекле, просматривая под микроскопом МБС. В хрусталиках рыб паразитируют метацеркарии трематод семейства *Diplostomidae*, в стекловидном теле – метацеркарии трематод семейства *Diplostomidae*, личинки нематод *Desmidacercella*, в глазной жидкости – миксоспоридий, метацеркарии трематод. Соскоб с внутренних стенок глаза исследуют компрессионным методом под микроскопом МБС. Обнаруженных метацеркарий трематод извлекают, считают

(отдельно инвазионных и неинвазионных) и отмывают в пресной воде. Если метацеркарий в хрусталике много (десятки и сотни), отмывку их удобнее проводить в 0,2 л стаканчике методом отмучивания и последовательных сливов. У живых метацеркарий подтверждают их принадлежность к роду *Diplostomum* и выявляют специфические особенности морфологии. Для этого собранных метацеркарий помещают на предметное стекло с лункой и исследуют их под малым увеличением микроскопа, обращая основное внимание на форму их тела, количество и характер расположения известковых телец. По форме и размерам известковых телец дифференцируют метацеркарий рода *Diplostomum* от таковых рода *Tylodelphys* (у первых известковые тельца имеют шаровидную форму и разные размеры, у вторых - они овальные и одинакового размера). Количество и характер расположения известковых телец в теле метацеркарий рода *Diplostomum* – один из важных морфологических особенностей этого вида. В глазах у одной рыбы могут одновременно паразитировать несколько видов рода *Diplostomum*. Известковые тельца отсутствуют у не достигших инвазионной стадии развития (чаще у молоди рыб) и утративших инвазионность метацеркарий (чаще у рыб старше пяти лет). Метацеркарии трематод без известковых телец только считают, не собирая для дальнейшей обработки и определения до вида. Видовая принадлежность возбудителей диплостомозов рыб определяется только по инвазионным метацеркариям.

9. МЕТОДЫ ФИКСАЦИИ ПАРАЗИТОВ

9.1. Мазки крови фиксируют в стаканчике с метанолом или смесью спирта и эфира (разведение 1:1) в течение 2-3 минут, подсушивают на воздухе, этикетируют и хранят в сухом виде, завернув в бумагу.

9.2. Простейших (инфузорий родов *Apiosoma*, *Scyphydia*, *Capriniana*, *Chillodonella* и др.) фиксируют в жидкости Шаудина. Слизь с содержащимися в ней паразитами тонким слоем размазывают по покровному стеклу, прикрепляют его к расщеплённой спичке и подсушивают до стадии, когда жидкость не стекает, но мазок ещё влажный. Затем стекло опускают мазком вниз в бюкс с жидкостью Шаудина на 10 минут.



Рисунок 9. Хранение влажных фиксированных мазков.

Затем мазок промывают 70° спиртом и переносят на 3- 5 минут в раствор йода в 70° спирте, разведённым до цвета крепкого чая, для удаления сулемы, входящей в состав фиксатора. После этого мазок промывают 70° спиртом –5-10 минут для удаления остатков йода. Мазки хранят в стаканчике с 70° спиртом до окрашивания.

9.3. Простейших класса жгутиконосцы фиксировать в смеси растворов Шаудина с ледяной уксусной кислотой. В 20 мл жидкости Шаудина капают 1 капля кислоты (непосредственно перед употреблением), слегка нагревают смесь до появления паров. Влажный мазок опускают в часовое стекло с подогретой смесью на 2-5 минут. Далее промывают в 70° спирте две минуты, затем переносят в смесь йод с 70° спиртом на две минуты и споласкивают 70° спиртом. Хранить в стаканчике со спиртом (рис. 9).

9.4. Триходин оставляют на покровном стекле до подсыхания слизи, в которой были найдены паразиты. Затем стекла переносят в сухую склянку или коробочку, накрывают этикеткой и хранят до последующей окраски. На дно стаканчика кладут чистую бумагу, на неё складывают стекло мазком вниз и сверху кладут этикетку.

9.5. При обнаружении спор микроспоридий (рис. 10) на предметное стекло капают жидкий желатин-глицерин и накрывают каплю покровным стеклом. Если спор много (раздавлена крупная циста), то можно сделать несколько препаратов. Для этого нужно снять покровное стекло, капнуть на предметное стекло каплю смеси желатин-глицерин и накрыть чистым покровным стеклом. А из покровного стекла со спорами сделать второй препарат (на чистое предметное стекло, капнуть желатин-глицерин и накрыть покровным стеклом). Это необходимо для того, чтобы лежали в один слой.

9.6. Кокцидий фиксируют методом, предложенным Мольнаром (1977). Мазок слизи на предметном стекле накрывают покровным стеклом, добавляют под него несколько капель 4 % формальдегида или 2,5 % глютаральдегида и обмазывают канадским бальзамом покровное стекло по периметру. Размер и структура ооцист сохраняется от 4 недель до 1 года.

9.7. Моногеней (рода *Dactylogirus*, *Gyrodactylus* и др.) фиксируют в жидком желатин-глицерине. Для этого следует положить 2-3 червя с каплей воды на предметное стекло. Для распрямления живых червей можно добавить каплю 0,5 –1,0 % раствора аммиака или слегка подогреть стекло, проводя им над пламенем спиртовки до момента вытягивания червей; отсосать избыток воды, дать подсохнуть, и только после этого капнуть жидкий желатин-глицерин и накрыть покровным стеклом. Покровные стёкла должны быть обезжиренными и тонкими. Класть стекло нужно выпуклой стороной вниз, иначе при положении вогнутой стороны образуется пузырёк, и слой желатин-глицерина будет толстым. Глядя в бинокляр, надавить иглой на покровное стекло, пока хитиновые образования червей не станут хорошо видными. Далее следует проверить (под большим увеличением микроскопа) достаточно ли сплющены черви, если недостаточно, то, подогрев препарат

снизу, нужно снова надавить иглой покровное стекло над объектами. Для длительного хранения препараты следует обмазать по краю покровного стекла горячей смесью воска с канифолью, контроль работы следует вести под микроскопом МБС.

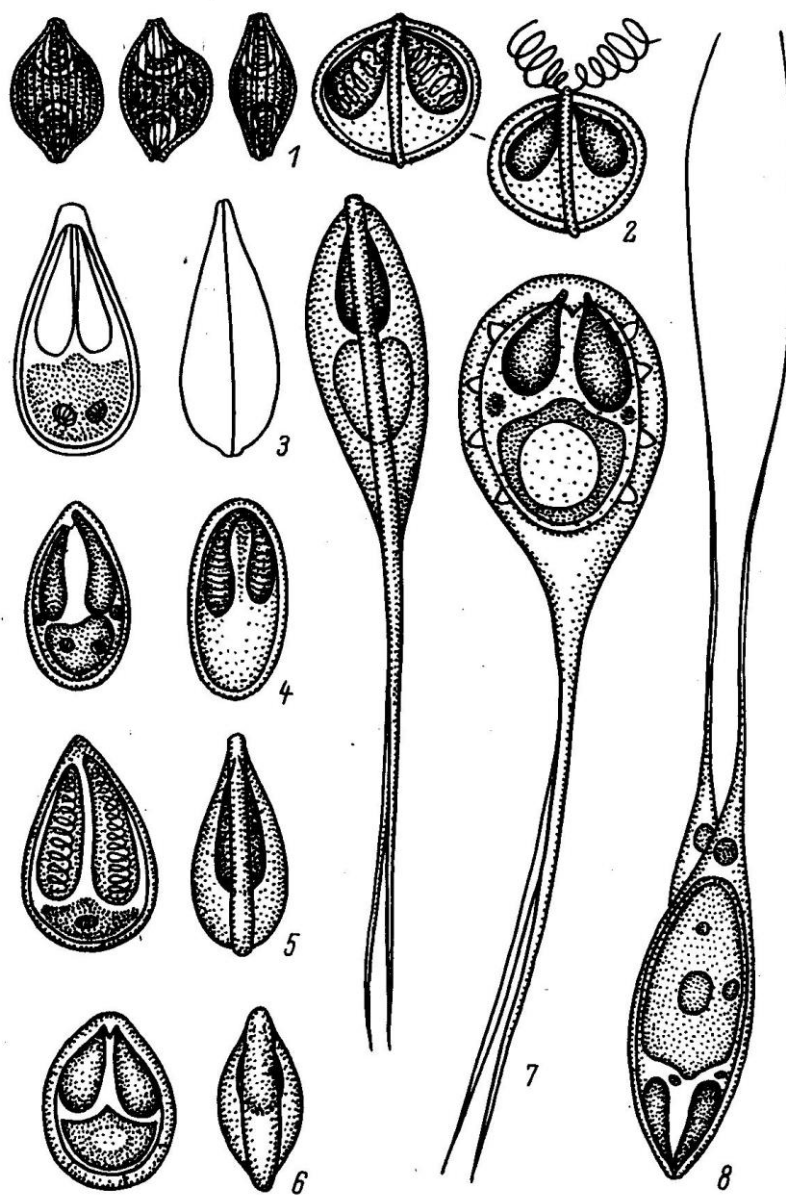


Рисунок 10. Микроспоридии – паразиты рыб: 1 – *Myxidium giardia*; 2 - *Sphaerospora carassii*; 3 - *Myxosoma dujardini*; 4 - *M. anurum*; 5 - *Myxobolus neurobius*; 6 - *M. exiguus*; 7 - *Henneguya zchokkei*; 8 - *H. lobosa*.

Для изготовления временных препаратов предложен другой метод фиксации моногеней (Ergens, 1969). Заранее готовится смесь пикрат аммония, который капают под покровное стекло с моногенеями. Но следует помнить, что пикрат аммония сохнет быстрее, желатин-глицерин и если ставить препараты на ребро, то реактив может вытечь.

Моногеней рода *Diplozoon* фиксируют методом, предложенным Хотеновским (1974). Для этого червей кладут на предметное стекло в капле во-

ды, подогревают, накрывают покровным стеклом. Затем покровное стекло снимают, на него переносят червя, избыток воды удаляют. Стекло с паразитом опускают на предметное стекло с каплей фиксатора Ван-Клива на 20-30 мин в чашку Петри. Фиксатор добавляют по мере испарения. Затем паразит переводится в пробирку с 70° спиртом до изготовления препарата. Также для определения паразита до вида перед фиксацией у червя необходимо отрезать задний отдел тела, положить его на предметное стекло, капнуть жидкий желатин-глицерин и накрыть покровным стеклом так, чтобы были хорошо видны все крючки.

9.8. Трематод отмывают от слизи, кладут на предметное стекло, накрывают покровным стеклом и пипеткой подливают 70° спирт с одной стороны стекла, а с другой - оттягивают воду фильтровальной бумагой до тех пор, пока препарат полностью не заполнится спиртом. Фиксация закончена, если гельминт потерял прозрачность. Затем аккуратно снимают покровное стекло, и червей переносят в пробирку с этикеткой, заполненной 70° спиртом. Для фиксации трематод можно использовать реактив Ван-Клива, который готовится заранее. Предметные стёкла с паразитами в чашке Петри заливают реактивом. Фиксация считается законченной, когда черви станут непрозрачными. Затем паразитов переносят в пробирку с 70° спиртом.

Метацеркарий мелких трематод (рода *Diplostomum*, *Cotylurus*, *Parascinogonimus* и др.) фиксируют и окрашивают одновременно. Фиксацию и окраску метацеркарий проводят уксуснокислым кармином путем окраски живых метацеркарий в минимальном количестве воды в пробирке объёмом 4-5 мл. Соотношение объема краски и воды в пробирке должно быть не менее 10:1. Все последующие манипуляции с трематодами осуществляют в той же пробирке путем смены реактивов тонкой пипеткой. Через 15-20 минут краску сливают, заменив таким же объёмом 1% раствором соляной кислоты в 70° этиловом спирте на 5-10 минут. На этой стадии работы можно хранить метацеркарии трематод для дальнейшей камеральной обработки.

9.9. Ленточных червей фиксируют также как трематод, кроме того, что стекла, на которых проводится фиксация 70° спиртом, должны быть толще, а время фиксации больше. Если черви крупные, то на стекло, следует ставить грузик для большего уплощения червя.

9.10. Нематод фиксируют горячим 70° спиртом в длинной пробирке. При этом пробирку следует держать пинцетом отверстием от себя. После фиксации нематод хранят в пробирке с 70° спиртом и этикеткой. Круглых червей можно фиксировать и хранить в жидкости Барбагалло.

9.11. Скребней, ракообразных (рис. 11), глохидий и пиявок фиксируют 70° спиртом или 4 % раствором формальдегида в небольшой пробирке, где они в последующем хранятся с этикеткой. Перед фиксацией скребней нужно отмыть от слизи и продавить между стёклами так, чтобы их хоботок вывернулся наружу. Фиксируют между стёкол до потемнения скребня. Для большего уплощения червя на стекло ставят грузики.

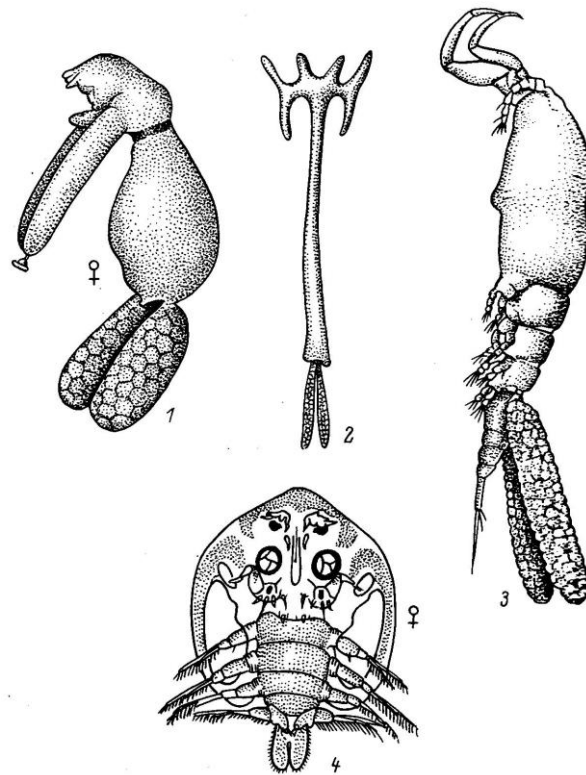


Рисунок 11. Паразитические рачки:
 1 – *Achteres percarum*; 2 - *Lernaea cyprinacea*; 3 - *Ergasilus briani*; 4 - *Argulus foliaceus*

10. МЕТОДЫ ОКРАСКИ ПАРАЗИТОВ

10.1. Мазки крови окрашивают азур-эозином (краска Романовского) или метиленовой синью. Имеющуюся в продаже краску Романовского перед окраской разводят дистиллированной водой из расчета 2-3 капли краски на 1 мл воды. Продолжительность окраски 20-40 минут. Эритроциты окрашиваются в красный или розовый цвет, протоплазма паразитов и лейкоцитов – в синий, ядра паразитов – в красный, ядра лейкоцитов – в фиолетовый.

Раствор метиленовой сини перед употреблением разводят дистиллированной водой 1:10. Мазки крови окрашивают в течение 30 секунд, затем промывают водой и дифференцируют в течение нескольких секунд 5-10 % водным раствором танина. Эритроциты окрашиваются в красно-фиолетовый цвет, протоплазма простейших кровепаразитов – ярко-голубой, ядра лейкоцитов – фиолетовый.

10.2. Для окраски паразитических инфузорий используют железный гематоксилин Гейденгайна. Мазки промывают в воде и помещают на 24 часа в 3 % раствор железоаммиачных квасцов. Затем переносят в 1 % спиртовой раствор гематоксилина на несколько часов и дифференцируют 1 % раствором железоаммиачных квасцов. Также инфузории можно окрашивать гематоксилином Делафильда или квасцовым кармином. Для окраски ядер инфузорий предлагается холодный способ окраски по Фельгену (Роскин, 1957).

Паразитических жгутиконосцев окрашивают железным гематоксили-

ном или методом Романовского-Гимза.

10.3. Инфузорий семейства *Trichodiniidae* подвергают импрегнации азотнокислым серебром по Клейну. На мазок с триходинами капают 1 % раствор азотнокислого серебра, выдерживают в темноте 10 минут. Затем ставят под кварцевую лампу или солнечный свет до потемнения инфузорий, промывают водой и дифференцируют в растворе гипосульфита натрия, контролируя под микроскопом МБС степень очистки триходин от серебра (крючья должны быть темными). После этого мазки несколько раз промывают водой, просушивают, капают бальзам и накрывают покровным стеклом. Препараты хранят в темноте.

10.4. Трематод, цестод и скребней окрашивают квасцовым кармином. Для этого фиксированных в 70° спирте гельминтов промывают несколько часов в проточной или часто сменяемой воде, затем помещают в краску на одну минуту или несколько часов в зависимости от толщины гельминта. Степень окраски паразитов контролируют под микроскопом МБС. Окрашенных паразитов переносят в дистиллированную воду на несколько минут, излишки жидкости убирают фильтровальной бумагой, проводят через спирты возрастающей крепости (70°, 80°, 96°), выдерживая в них по несколько минут. Обезвоженных паразитов просветляют гвоздичным маслом или ксилолом и заливают бальзамом.

Метацеркарий родов *Diplostomidae*, *Cotylurus* проводят через спирты возрастающей крепости (85° и два раза 96° этиловый спирт) и просветляют диметилфталатом (диметиловый эфир фталевой кислоты). Диметилфталат вносят в пробирку пипеткой, медленно выпуская его по стенке пробирки в спирт. Метацеркарии при этом оказываются на границе спирта и диметилфталата. Просветление считается законченным при опускании метацеркарий на дно пробирки. Затем поверхностные слои в пробирке удаляют, заменяя их диметилфталатом.

Для изготовления постоянных препаратов из метацеркарий трематод необходимо иметь две консистенции бальзама – жидкий и густой. Вначале на предметное стекло стеклянной палочкой наносят капли густого бальзама – по горизонтали 5-7 капель и по вертикали также 5-7 (по трафарету под стеклом). Затем паразитов из диметилфталата переносят в капли бальзама по одному, располагая их ротовыми присосками в одну сторону. После этого на покровное стекло капают жидкий бальзам и накрывают метацеркарий. После подсыхания бальзама на стекле по горизонтали тушью пишут буквы, а по вертикали – цифры под каждым паразитом.

Цестод, так же как трематод, можно окрашивать гематоксилином Майера в течение 30 минут или 24 часов в зависимости от последующей дифференцировки или без неё. Дифференцировку гельминтов проводят в 1 % солянокислом спирте под контролем микроскопа МБС с последующим перенесением в проточную воду на 20-30 минут.

10.5. Временные препараты из скребней и нематод не окрашивают, а помещают в неразведенную молочную кислоту или лактофенольный рас-

твор, которые просветляют гельминтов, делая их пригодными для исследования под микроскопом. Мелкие формы гельминтов помещают в 1-2 капли молочной кислоты на 1-2 дня. Крупных нематод просветляют молочной кислотой 3-10 дней в пробирках, бюксах или чашках Петри.

Приготовление постоянных микроскопических препаратов нематод осуществляют следующим образом. Живых нематод, фиксированных в горячем 70° спирте, переносят через сутки в 96° спирт на несколько часов (в зависимости от величины нематод) и абсолютный спирт на 3-5 минут. Выдержав гельминтов в гвоздичном или хеноподиевом масле или карбоксилале 2-5 минут, их помещают на чистое предметное стекло и заливают бальзамом.

5.10.6. Ракообразных выдерживают двенадцать часов в трёх каплях воды и одной капле глицерина, затем двенадцать часов в двух каплях воды и двух каплях глицерина, ещё двенадцать часов в одной капле воды и трёх каплях глицерина. Это необходимо для того, чтобы рачки не сморщивались. На предметном стекле рачка расправляют, капают жидкий желатин-глицерин и накрывают покровным стеклом. Если рачок крупный, то на концах покровного стекла делают парафиновые ножки.

Для изготовления постоянных препаратов ракообразных предлагается другой способ. На тонкое предметное стекло шпателем наносят мазок разогретого до 55°С парафина, в центр мазка капают маленькую каплю глицерина, в которую помещают отпрепарированные части рачка (уже проведенные через смесь воды с глицерином), расправляют стеклянной иглой. Каплю накрывают покровным стеклом. Препарат нагревают над спиртовкой, пока не расплавится парафин. Рачок оказывается в капле глицерина, защищённого парафином.

10.7. Из гложидий (рис. 12) делают желатин-глицериновые препараты. Отбирают как раскрытые, так и закрытые створки паразитов. Клюв с шипиками измеряют и зарисовывают. У закрытых створок измеряют размеры.

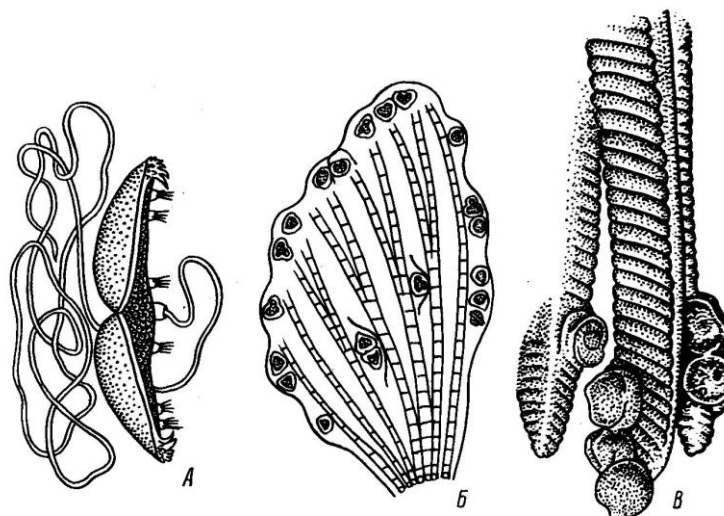


Рисунок 12. Гложидии моллюсков: А – раскрытый гложидий с биссусовой нитью; Б – гложидии на плавнике; В – на жабрах.

**ПРАВИЛА ОТБОРА БОЛЬНЫХ РЫБ, ПАТОЛОГИЧЕСКОГО
МАТЕРИАЛА, КРОВИ, КОРМОВ И ПЕРЕСЫЛКИ ДЛЯ
ЛАБОРАТОРНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ
(УТВЕРЖДЕНЫ ГУВ МСХ СССР 9 СЕНТЯБРЯ 1987 ГОДА)**

1. Больных и подозрительных по заболеванию инфекционными и инвазионными болезнями рыб доставляют в лабораторию в живом виде. Для исследования отбирают 15 - 20 рыб с явно выраженными признаками болезни.

2. Рыб перевозят в чистых молочных бидонах, пластиковых мешках, пакетах или других ёмкостях, предназначенных для перевозки живой рыбы, заполненных на 3/4 объёма водой из того же водоёма, откуда взята рыба.

Летом при длительной транспортировке воду с рыбой постепенно охлаждают до температуры 12 - 15°C, добавляя кусочки льда. Чтобы не вызвать температурного шока нельзя пересаживать рыбу в воду, имеющую температуру ниже, чем в водоёме.

3. Для вирусологического исследования живых рыб помещают в двойной полиэтиленовый пакет, заполненный водой на 1/3 объёма. В наружный пакет для охлаждения воды кладут лед. Пакет помещают в ящик, отправляют с нарочным в лабораторию. Мертвая рыба направляется только в том случае, если она погибла после отлова перед отправкой в лабораторию. Такую рыбу кладут в полиэтиленовый пакет, который помещают в термос или пакет со льдом. При направлении рыбы для исследования на вирусносительство берут, с соблюдением правил асептики, внутренние органы (можно объединять органы от пяти рыб в одну пробу) и помещают в стерильный флакон, который плотно закрывают резиновой пробкой. Флакон помещают в термос или полиэтиленовый пакет со льдом.

В тех случаях, когда невозможно направить материал немедленно, его можно хранить в холодильнике при температуре не выше 4°C не более суток. Патологический материал от больных рыб или подозреваемых в заболевании вирусной этиологии можно консервировать 50 % фосфатно-буферным раствором глицерина pH 7,2 - 7,4.

4. Материал для патологического исследования берут от больных снулых рыб. Мелких рыб (мальки и сеголетки) после вскрытия брюшной полости фиксируют целиком, а от крупных берут органы или кусочки органов размером 2x3 см и толщиной 0,5 - 1,0 см.

Кусочки из поражённых органов и тканей вырезают так, чтобы были захвачены нормальные и поражённые участки. Независимо от степени поражения берут кусочки разных органов (кожа с подлежащей мускулатурой, жабры, печень, почки, селезёнка, сердце, кишечник, плавательной пузырь, головной мозг).

Кишечник перед фиксацией осторожно вскрывают или делают на нём несколько надрезов, чтобы фиксирующая жидкость проникла в его полость. Головной мозг осторожно извлекают целиком после вскрытия черепной ко-

робки. Подлежащий исследованию материал помещают в стеклянную банку и фиксируют.

В качестве фиксирующей жидкости лучше всего использовать 10 % водный раствор формальдегида или 96° этиловый спирт. При применении спирта толщина кусочков ткани не должна превышать 0,5 см. Фиксирующую жидкость во всех случаях через сутки необходимо заменить свежей.

5. Кровь для исследования берут из хвостовой артерии или из сердца. Для этого на месте взятия крови счищают скальпелем чешую, кожу вытирают от слизи и дезинфицируют 70° спиртом. Кровь насасывают в пастеровскую пипетку, затем переносят на часовое стекло и быстро отбирают количество, необходимое для гематологических исследований (подсчета количества форменных элементов, определения гемоглобина, приготовления мазков и т.д.).

6. Для биохимических исследований цельную кровь предохраняют от свертывания, добавляя к ней лимоннокислый или щавелевокислый натрий (на 1 мл 2 мг), или 1-2 %-ный раствор гепарина (на 1 мл от 0,01 до 0,02 мл) и доставляют в лабораторию в герметически закрытых стеклянных сосудах (пробирках), снабженных этикеткой.

Для получения сыворотки взятую кровь выдерживают около часа при 20-30°C для свертывания. Затем сгусток крови отделяют от стенок пробирки стальной спицей (проволокой), которую дезинфицируют раствором карболовой кислоты или обжигают на пламени после каждой пробы. Пробирки выдерживают при температуре 4 - 10°C 18 - 24 часов, а отстоявшуюся сыворотку в количестве 2 - 3 мл сливают в сухие стерильные пробирки, которые маркируют так же, как пробирки с кровью, и направляют в лабораторию в свежем или консервированном виде.

7. При подозрении на инвазионные болезни у крупных рыб извлекают пораженные паразитами органы и ткани (жабры, кишечник, печень и др.) и посылают для исследования законсервированными в банках, мелких рыб - целиком.

Целых рыб или кусочки органов и тканей фиксируют в 70° этиловом спирте или 4 % растворе формальдегида.

8. Обнаруженных при паразитологическом вскрытии рыб паразитов фиксируют для их дальнейшего определения.

Покровное стекло, на котором находятся простейшие рода *Trichodina*, подсушивают на воздухе и, снабдив этикеткой, хранят до окрашивания.

Мазки крови, на которых найдены кровепаразиты, фиксируют метиловым спиртом (1-2 мин) или смесью спирта и эфира в равных количествах, подсушивают на воздухе и в лабораторных условиях окрашивают раствором Романовского-Гимза.

Моногеней (дактилогирус, гиродактилус и др.) заключают в желатин-глицерин на предметных стеклах, покрывая покровными стеклами.

Трематод и мелких цестод фиксируют 70° спиртом на предметном стекле, накрыв покровным стеклом, чтобы они сохранились в расправлен-

ном виде. Через 20-30 мин, когда они станут непрозрачными, гельминтов переносят в пробирку со спиртом, этикеткой и закрывают пробкой. Пробирку помещают в большую банку со спиртом и плотно завинчивающейся крышкой. Крупных цестод фиксируют также, как и мелких, но стекла следует сильнее сдавливать, поставив на них грузик.

Нематод фиксируют горячим 70° спиртом и хранят в пробирке.

При фиксации скребней необходимо раздавить их между стеклами так, чтобы хоботок гельминтов полностью вышел из влагища, а затем между стекол подливается 70° спирт на 20 мин.

Паразитических рачков фиксируют и хранят в 70° спирте.

Пиявок фиксируют и хранят в 2 % растворе формальдегида.

9. При подозрении на отравление рыб отбирают пробы воды из водоёма непосредственно на месте гибели рыбы, а также сточных вод промышленных предприятий и сельскохозяйственных объектов, находящихся вблизи водосборной площади данного водоёма.

9.1. Для гидрохимического и химико-токсикологического исследований водоёмов пробы воды берут батометром в количестве 2 - 3 л каждая из поверхностных (на глубине 30 - 50 см от зеркала воды) и глубинных слоев (не менее 10 - 15 см от дна), не допуская взмучивания грунта. Из проруби пробу воды берут на глубине 10-15 см от нижней поверхности льда. При отборе проб необходимо исключить элементы случайности (временная взмученность воды, поверхностный слой воды).

В проточном водоёме пробы берут на быстринах, перепадах, водосборах и водоспусках. Из больших водоёмов пробы берут в нескольких местах с учётом гидробиологических особенностей каждого участка (заросли, заболоченные участки, плёсы и т.д.), в однотипных по гидробиологическим условиям водоёмах – в одном-двух местах, на расстоянии 3 - 4 м от берега.

9.2. Вблизи сельскохозяйственных объектов, промышленных предприятий и мест сброса коммунально-бытовых сточных вод, пробы воды берутся на условно чистом участке выше источника загрязнения; в месте поступления сточных вод и на различном расстоянии в нескольких точках ниже места выпуска стоков.

На промышленном предприятии отбирают среднесуточные пробы (2 - 3 л) воды общего выпуска.

9.3. Воду для анализа отбирают в чисто вымытые (без мыла) склянки. Перед наполнением склянку промывают 2-3 раза исследуемой водой. При транспортировке проб зимой их нужно утеплить. Если доставка в лабораторию в тёплое время займет свыше суток, взятые пробы консервируют. Для этого в пробу, предназначенную для определения взвешенных веществ, нитритов, нитратов, фосфатов на каждый литр воды добавляют 2 мл хлороформа и хорошо взбалтывают. В порцию, предназначенную для определения аммиака, окисляемости, хлоридов на 1 л добавляют 2 мл 25 % серной кислоты. Третью часть пробы для химического анализа на токсические компоненты сточных вод не консервируют.

10. Для химико-токсикологических исследований в лабораторию доставляют живых или недавно погибших рыб, не менее 5 экземпляров каждого вида. Одновременно направляют рыб того же вида из благополучного водоёма для контрольных исследований. Если доставить живых или свежеснувших рыб невозможно, а также в тёплое время года, рыб охлаждают на льду, промораживают или консервируют этиловым спиртом. Другие вещества для консервирования использовать нельзя. Вместе с пробами высылают 50 - 100 мл консерванта.

11. Грунт для исследований берут в количестве 2 кг с поверхности дна водоёма дночерпателем Экмана или Кирпичникова. Пробы отбирают выше предполагаемого источника загрязнения, в месте поступления сточных вод и на различном расстоянии в нескольких точках ниже места выпуска стоков – на течении и в застойных зонах (ямах, бочагах, низинах). Грунт высушивают на воздухе, растирают в ступке, просеивают через мелкое сито и упаковывают в широкогорлые банки или полиэтиленовые мешочки по 50 г каждый.

12. Материал для исследований отбирают комиссионно с участием ветврача-ихтиопатолога, специалиста органов рыбохраны водного хозяйства, санитарно-эпидемиологической станции и представителя местной администрации.

Весь материал упаковывают в водонепроницаемую тару, печатают и вместе с актом комиссии направляют в лабораторию с нарочным.

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПРОТОЗОЙНЫХ БОЛЕЗНЕЙ РЫБ

Протозойные болезни рыб вызываются паразитами, относящимися к подцарству простейшие – преимущественно одноклеточных организмов.

Клетка простейшего состоит из цитоплазмы, а также одного или нескольких ядер. Цитоплазма включает поверхностный слой – эктоплазму и более жидкую часть – эндоплазму, в которой располагаются ядро, вакуоли и другие органоиды. Эктоплазма может быть плотной, благодаря чему поддерживается постоянство формы тела простейших. Пищеварение осуществляется с помощью пищеварительной вакуоли. У большинства простейших имеется цитостом (ротовое отверстие), у некоторых – сосательные щупальца. Имеются выделительные и дыхательные вакуоли. Передвижение простейших осуществляется с помощью жгутиков, ресничек и псевдоподий. В определённых условиях некоторые простейшие способны образовывать цисту покоя и переживать неблагоприятные условия.

Размножение у большинства простейших происходит бесполым путём: делением надвое или множественным делением; встречается и половое размножение.

Подцарство простейших включает типы жгутиковых, споровиков, ресничных инфузорий, кнidosпориций, микроспориций, саркодовых.

Из типа жгутиковых (*Mastigophora*) у рыб паразитируют представите-

ли нескольких родов: *Ichtiobodo*, *Cryptobia*, *Trypanosoma*, *Hexamita* (рис. 13). Это мелкие паразиты длиной от 5 до 70 мкм, передвигающиеся с помощью 1 и более жгутиков. Форма тела удлинённая, овальная, благодаря наличию пелликулы (уплотнённая эктоплазма). В цитоплазме расположены отдельные органеллы (ядро, вакуоли, блефаропласт, centrosома и др.), выполняющие различные функции. Питаются жгутиконосцы всей поверхностью тела, пища переваривается в пищеварительных вакуолях.

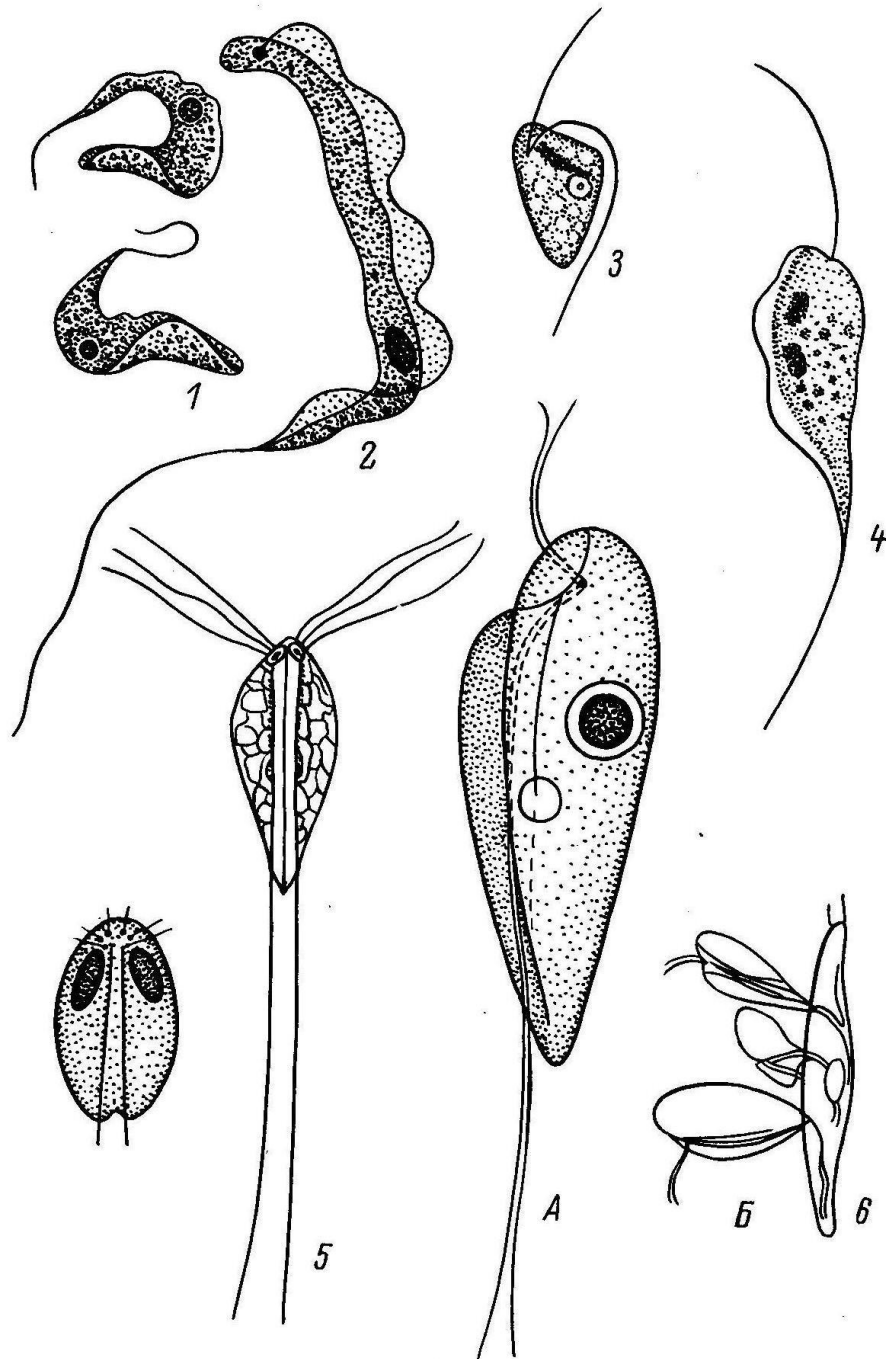


Рисунок 13. Жгутиконосцы – паразиты рыб:

1 – *Trypanosoma luciopercae*; 2 – *Trypanosoma acerinae*; 3 – *Cryptobia agitate*; 4 – *Cryptobia branchialis*; 5 – *Hexamita salmonis*; 6 – *Ichtiobodo necator*: А – общий вид, Б – прикреплённые особи.

Размножение у большинства жгутиконосцев бесполое путем продольного деления надвое, иногда почкованием; у отдельных видов отмечается и половой процесс. С наступлением неблагоприятных условий паразиты образуют цисты покоя, в течение длительного времени сохраняющиеся в воде. Развитие кровяных жгутиконосцев (роды *Cryptobia*, *Trypanosoma*) происходит со сменой хозяев – рыб и пиявок, причем в кишечнике пиявок жгутиконосцы размножаются и проходят определённые стадии развития.

У рыб жгутиконосцы паразитируют на поверхности тела и жабр. В крови и кишечнике, мочевом и желчном пузырях, полости тела. Распространены паразиты повсеместно.

Для обнаружения жгутиконосцев делают соскобы с поверхности тела, ротовой полости, носовых ямок, помещают их на отдельные покровные стёкла, добавляют 1-2 капли воды. Готовят мазки крови. Выделяют жаберные дуги, делают соскоб на стекле для вскрытия и добавляют несколько капель воды. Вскрывают рыбу, извлекают кишечник. Делают клячпрепараты и соскобы с внутренней стенки кишечника. Соскобы помещают на предметное стекло, добавляют 1-2 капли воды. Извлекают желчный и мочевой пузыри, вскрывают их, и содержимое помещают на предметное стекло, пипеткой берут каплю жидкости из брюшной полости, помещают на предметное стекло и накрывают покровным.

Из типа споровиков у рыб паразитируют кокцидии (рода *Eimeria*) и гемогрегарины (рода *Haemogregarina*). Эпизоотологическое значение имеют внутриклеточные паразиты – кокцидии. Взрослые вегетативные стадии (трофозоиды) имеют овальную форму, одно ядро. Ооцисты кокцидий рода *Eimeria* имеют округлую форму, окружены оболочкой, диаметр около 10-15 мкм у пресноводных видов и несколько больше у морских. Внутри ооцисты насчитывается 4 споры, в каждой из которых находится по два спорозоида. Кокцидии паразитируют внутри эпителиальных клеток кишечника, печени, почек, половых желез, плавательного пузыря и других органов. Систематика кокцидий основана на размерах и строении ооцисты (рис. 14).

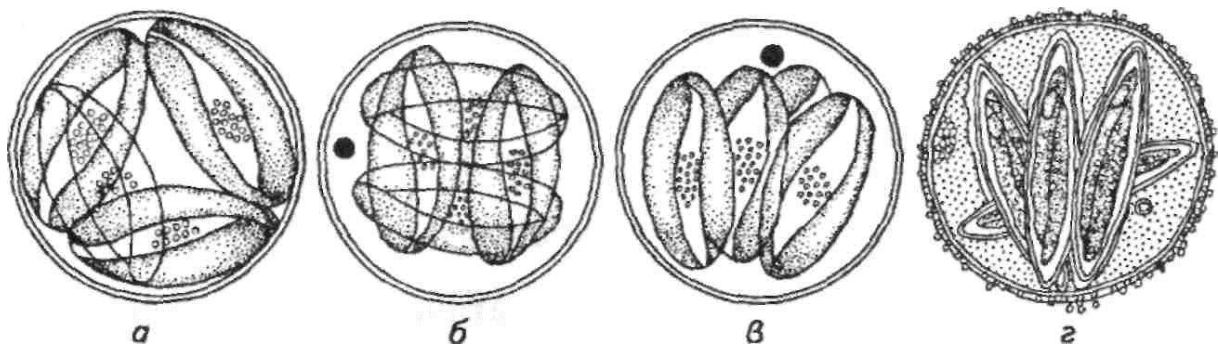


Рисунок. 14. Ооцисты кокцидий возбудителей кокцидиоза:
 а - *Goussia carpelli*; б - *G. sinensis*; в - *G. cheni*; з - *G. sardinae*

Жизненный цикл кокцидий протекает без смены хозяев, но с чередованием поколений: бесполого (шизогония) и полового (гаметогония). Из заглоченной рыбой ооцисты выходят спорозоиты, которые внедряются в клетки эпителия кишечника, растут в них, превращаясь в шизонта. Ядро шизонта делится, он становится многоядерным и распадается на мелкие продолговатые клетки – мерозоиты. Мерозоиты внедряются в новые эпителиальные клетки, давая начало второму поколению шизонтов. Процесс бесполого размножения неоднократно повторяется. Некоторая часть мерозоитов, внедрившись в клетки, не образует шизонта, а даёт начало половым клеткам: женским – макрогаметам и мужским – микрогаметам (удлинённым клеткам с двумя жгутиками на переднем конце). Микрогаметы подвижны: они отыскивают макрогамету, сливаются с ней и образуют зиготу, которая обрастает плотной оболочкой и превращается в ооцисту. Ядро ооцисты делится на четыре части, из которых образуются споры и спорозоиты. Процесс спорогонии кокцидий рыб в отличие от паразитов наземных животных происходит в хозяине. Из кишечника рыбы вместе с экскрементами ооцисты выводятся наружу, и длительное время находятся в состоянии покоя во внешней среде, пока не будут заглочены рыбой.

У рыб паразитируют кокцидии только одного рода – *Eimeria*.

Болезни вызывают у прудовых рыб (карпа и растительноядных) виды *E. cyprini*, *E. cheni*, *E. sinensis*. Описан кокцидиоз семенников морских рыб – сельдей, салаки и др.

Гемогрегарины паразитируют в крови пресноводных, реже морских рыб. Их строение и систематика изучены слабо, развитие в отличие от кокцидий происходит со сменой хозяев – рыб и пиявок.

Для обнаружения кокцидий и гемогрегарин рыбу обездвигивают. Берут кровь и на обезжиренном предметном стекле готовят мазок. Вскрывают рыбу. С помощью пинцета отделяют селезёнку и почки. Скальпелем разрезают селезёнку на кусочки. Один из них берут пинцетом, прикасаются к чистой фильтровальной бумаге для удаления излишней крови и делают отпечатки, касаясь кусочком селезёнки предметного стекла. Аналогичным способом делают отпечатки из почек для обнаружения гемогрегарин. Извлекают кишечник, отделяют от остальных внутренних органов, затем вскрывают его, и содержимое помещают на предметное стекло или стекло для вскрытия, добавляют несколько капель воды. Далее делают соскоб с внутренней стенки кишечника, помещают его на предметное стекло, добавляют 1-2 капли воды и накрывают покровным стеклом. Подсушенные мазки крови и отпечатки внутренних органов окрашивают по Паппенгейму. Окрашенные мазки и отпечатки просматривают под масляной иммерсией микроскопа. Содержимое кишечника накрывают покровным стеклом и просматривают под малым увеличением микроскопа. При обнаружении цист кокцидий их выделяют с помощью препаровальных игл и пипетки, помещают на предметное стекло. Препаровальными иглами разрушают оболочку, накрывают

покровным стеклом и рассматривают под микроскопом.

Класс миксоспоридии (*Myxosporidia*), или слизистых споровиков, относится к типу книдоспоридий. Миксоспоридии сочетают в себе, с одной стороны, ряд черт, сближающих их с простейшими (отсутствие тканей и органов), с другой — по ряду признаков они выходят за рамки простейших, поднимаясь до надклеточного уровня или даже до многоклеточности (споры миксоспоридии многоклеточны). Пока окончательное положение миксоспоридии в естественной систематике еще не установлено, их условно относят к простейшим, тем более что они микроскопически малы. Возбудители миксоспориозов паразитируют среди беспозвоночных олигохет, полихет и мшанок, которые служат вторыми хозяевами в сложном и своеобразном цикле миксоспоридий.

Ранее считалось, что цикл развития миксоспоридии прямой, когда выделившиеся из рыбы споры (микоспоры) после некоторого периода созревания служат для заражения других особей рыб. Споры заглатываются рыбой с водой во время питания.

Однако имеются и другие данные, свидетельствующие о том, что цикл миксоспоридий проходит с участием двух хозяев - рыб и беспозвоночных. Впервые такой цикл изучен американскими учеными для возбудителя вертежа лососевых рыб миксоспоридий *Myxosoma cerebralis*. Цикл развития миксоспоридий состоит из 2 фаз: микоспореи, проходящей в рыбе и заканчивающейся образованием микоспор для заражения беспозвоночных; актиноспореи, проходящей в беспозвоночных хозяевах и заканчивающейся образованием актиноспор для заражения рыб.

В настоящее время опыты по изучению сложного цикла миксоспоридий позволили подтвердить его для 30 видов, принадлежащих к родам *Myxobolus*, *Sphaerospora*, *Henneguya* и др.

Однако не у всех исследователей опыты по заражению рыб миксоспоридиями с участием беспозвоночных (в основном олигохет) увенчались успехом. Кроме того, есть сведения о возможности прямого заражения рыб микоспорами, спорами выделенными от рыб. Не исключено, что в природе имеют место оба типа циклов и разные виды развиваются неодинаково.

Миксоспоридий у рыб встречаются в виде, как вегетативных стадий, так и спор. При паразитировании в желчном и мочевом пузырях, в мочевых канальцах почек и мочеточниках (полостной паразитизм) вегетативные стадии представлены подвижными многоядерными амeboидами. При паразитировании в тканях (тканевой паразитизм) вегетативные стадии обычно принимают вид овальных или округлых неподвижных образований, внешне напоминающих цисты, одетые соединительнотканной оболочкой, выделенной хозяином, или встречаются в виде диффузного инфильтрата, когда вегетативное тело заполняет бесформенной массой промежутки между элементами тканей хозяина.

В вегетативных стадиях происходит образование спор. Спора миксоспоридий устроена довольно сложно (рис. 15). Она обычно состоит из

створок, часто снабженных различными выростами и скульптурными образованиями. Внутри споры находятся амебодный зародыш и различное число полярных капсул (1—8). В каждой полярной капсуле помещается спирально скрученная стрекательная нить. Форма и строение споры имеют важное значение в систематике микоспоридий (рис. 16).

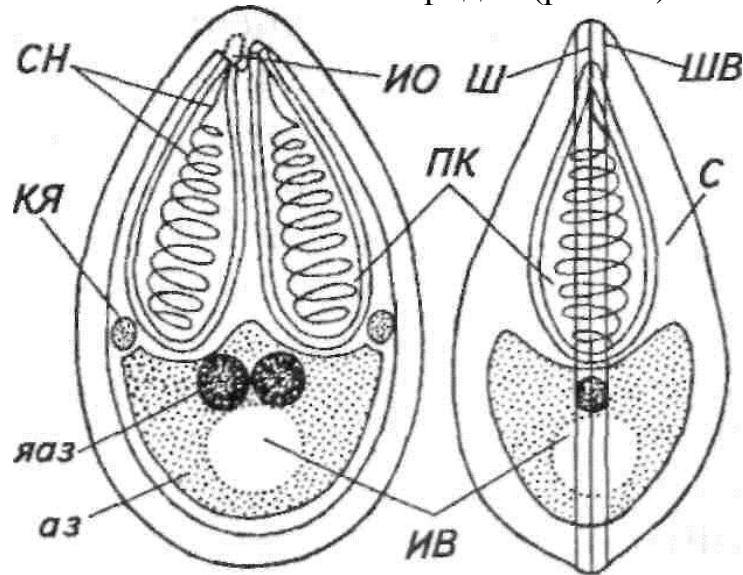


Рисунок 15. Схема строения споры микоспоридии: аз - амебодный зародыш; КЯ - капсулогенные ядра; ПК - полярные капсулы; С - створки; СН - стрекательная нить; Ш - шов; ШВ - шовный валик; яаз - ядра амебодного зародыша.

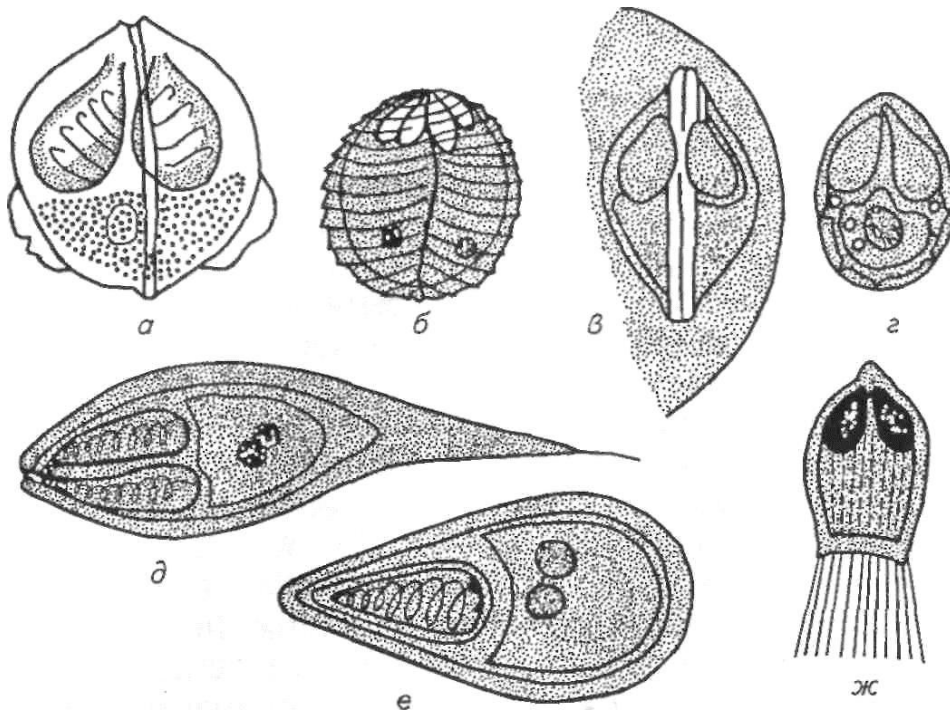


Рисунок 16. Споры микоспоридий: а - *Sphaerospora branchialis*; б - *Chloromyxum truttae*; в - *Myxosoma cerebralis*; г - *Myxobolus cyprini*; д - *Henneguya oviperda*; е - *Thelohanellus pyriformis*; ж - *Hofferellus cyprini*.

Зрелые споры тем или иным путем выводятся из тела рыбы в водоем и вместе с водой или при питании попадают в кишечник других рыб. Там под влиянием кишечного сока стрекательные нити «выстреливают», распрямляются и вонзаются своим концом в стенку кишечника, створки споры раскрываются и из нее выходит амебоидный зародыш. Он проникает в кровеносное русло или лимфатическую систему и кровью или лимфой заносится к месту паразитирования. Далее в амебоидном зародыше сначала происходит слияние ядер и образуется зигота. Затем амебоид растет, многократно делится, и таким образом образуются многоядерные вегетативные стадии различной формы и величины. В процессе роста вегетативных стадий в них происходит образование спор.

Цисты варьируют по форме от округлых и овальных до разветвленных, а по размерам от мелких, выявляющихся только с помощью оптики, до крупных, видимых невооруженным глазом. Количество спор в цистах также варьирует у разных видов от единичных спор до многих тысяч. Попадание спор во внешнюю среду у полостных миксоспоридий происходит через желчные или мочевые протоки. Споры тканевых миксоспоридий попадают во внешнюю среду после гибели хозяина и разложения его тканей или при повреждении наружных цист.

Современная система миксоспоридии основывается на строении спор. Различают два отряда миксоспоридии:

1. *Bivalvulida*, включающий, как морские, так и пресноводные виды. Группа очень богата видами. Споры имеют 2 створки.

2. *Multivalvulida*, состоящий из морских видов, у которых число створок и полярных капсул колеблется от 3 до 6.

Не все миксоспоридии одинаково патогенны, однако, среди них много видов, вызывающих опасные болезни и являющихся причиной массовой гибели рыб. Кроме того, некоторые морские миксоспоридии могут значительно ухудшать товарные качества океанической рыбы, вызывая лизис тканей в местах нахождения их цист после некоторого срока хранения рыбной продукции в замороженном виде.

Для обнаружения миксоспоридий живую рыбу обездвиживают и помещают в кювету с небольшим количеством воды. Внимательно осматривают поверхность тела и плавники. В некоторых случаях на поверхности тела заметны светлые бугорки – цисты, содержащие споры слизистых споровиков. При обнаружении цист их осторожно снимают с помощью препаровальных игл. Выделенные цисты помещают на чистое покровное стекло. Во избежание высыхания цист к ним добавляют 1-2 капли воды. Выделяют жаберные дуги, помещают на предметное стекло и внимательно просматривают визуальным, а затем под МБС. При обнаружении цист их выделяют и помещают на покровное стекло, добавив воды. Рыбу вскрывают, внимательно осматривают поверхность внутренних органов и стенок брюшной полости. Затем осматривают и исследуют все внутренние органы. При обнаружении

цист их выделяют, помещают на отдельные покровные стёкла из каждого внутреннего органа.

Желчный и мочевой пузыри помещают каждый отдельно на стёкла для вскрытия (можно предметные), разрезают ножницами. Вылившееся из пузырей содержимое покрывают покровным стеклом и рассматривают под малым, а затем большим увеличением микроскопа. С внутренней стенки пузыря делают соскоб, накрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом. При исследовании желчного пузыря обращают внимание на желчный проток, где можно обнаружить споры и вегетативные стадии паразитов. Остальные внутренние органы и мышцы исследуют компрессионным способом, взяв для этого небольшой кусочек.

Споры микроспоридий очень мелкие, поэтому их можно рассмотреть только с помощью иммерсионного объектива. При обнаружении спор зарисовывают их строение, измеряют длину, ширину, толщину и другие параметры. Обращают внимание на наличие отростков или исчерченности поверхности створок спор.

Микроспоридии - облигатные внутриклеточные спорообразующие паразиты, имеющие одноклеточную организацию с чрезвычайно широким кругом хозяев – от простейших до позвоночных, включая млекопитающих. Они самые мелкие из известных паразитов, размером в среднем 2-6 мкм.

Трофические стадии микроспоридий развиваются в тесном контакте с цитоплазмой клетки хозяина и имеют очень простое строение. Размножение паразитов внутри клеток хозяина происходит посредством множественного деления (мерогонии или шизогонии), во время которого образуются многоядерные плазмодии округлой или лентовидной формы (рис. 17).

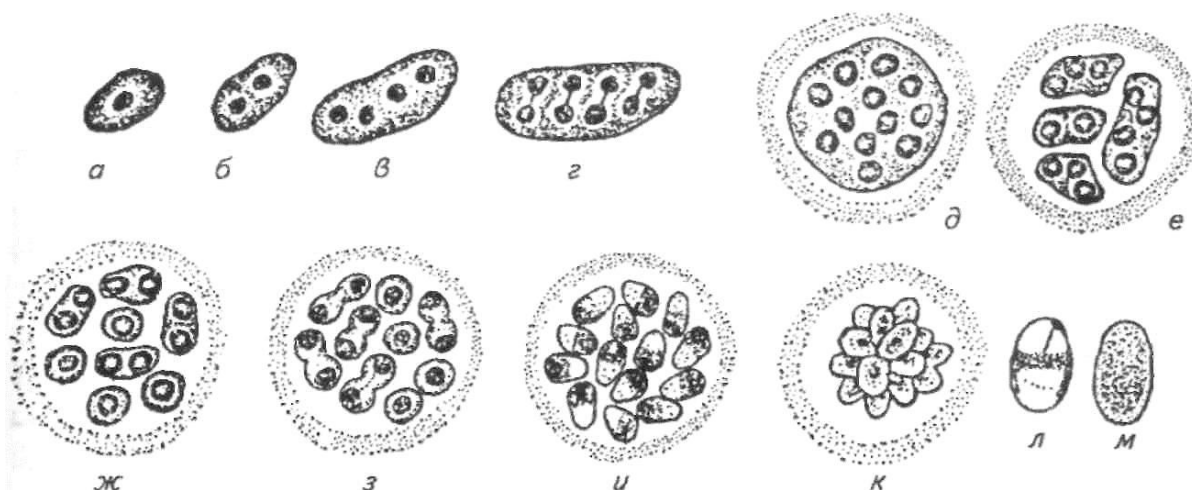


Рисунок 17. Цикл развития микроспоридий рода *Glugea* (на примере *G. apotala*): а, б - молодые шизонты; в, з - поздние шизонты; д - спорогональный плазмодий; е, ж - деление спорогонального плазмодия; з-к - спорогония; л, м – споры.

Уже на начальном этапе размножения часть плазмодиев переходит к стадии спорогонии, т. е. встает на путь образования спор, в то время как другая часть плазмодиев продолжает вегетативное развитие. Процесс спорогонии достаточно прост и представляет собой поэтапное деление многоядерного плазмодия (панспоробласта) на одноядерные клетки, споробласты. Споробласты - переходная форма, в процессе которой формируются все органы спор. Зрелые споры часто остаются объединенными вместе остатками оболочки панспоробласта. У разных микроспоридий количество спор, образующихся в одном панспоробласте, четко определенное (2, 4, 8, 16 и более), что используется в систематике микроспоридий. В результате в зараженной клетке по ее периферии располагаются вегетативные, непрерывно размножающиеся плазмодии, а в центре клетки накапливаются споры микроспоридий. Подобный процесс размножения может длиться месяцами и часто ведет к гипертрофии зараженных клеток, которые достигают иногда огромных размеров (до 3-5 мм) и в результате становятся видны невооруженным глазом. Такое разрастание одной клетки хозяина под воздействием паразита называется ксеномой.

Несмотря на чрезвычайно мелкие размеры, споры микроспоридий устроены крайне сложно и содержат уникальный аппарат для заражения клетки хозяина. Строение спор удалось установить только при использовании электронной микроскопии. Оболочка споры состоит из трех различных по строению и химическому составу слоев. В центральной части споры лежит один одно- или двухъядерный зародыш. Весь остальной объем споры занимает свойственный только микроспоридиям аппарат экструзии, состоящий из полярной трубки (ранее называвшейся стрекательной, или полярной, нитью), полярного якорного диска, поляропласта и задней вакуоли (рис. 18). Длина полярной трубки у микроспоридий рыб превышает длину споры в десятки раз, достигая 500 мкм. Она начинается от переднего полюса споры, где ее основание заключено в якорный диск, лежащий под оболочкой. От переднего конца споры полярная трубка направляется назад, затем резко поворачивает к боковой стенке и ложится в задней трети многочисленными спиральными витками в 1-3 слоя под самой оболочкой. Всю переднюю треть или половину споры занимает поляропласт, Похожий на кипу плотно уложенных пластин и пронизанный в центре полярной трубкой. На заднем полюсе споры расположена вакуоль, заполненная жидкостью.

Заражение хозяина происходит при заглатывании спор паразита. Под влиянием пищеварительных соков объем поляропласта сильно увеличивается путем быстрого отодвигания мембран каждой пластины друг от друга. В результате внутри споры создается высокое давление, приводящее к выворачиванию из нее полярной трубки и проталкиванию через ее канал зародыша паразита. Этот процесс длится доли секунды и похож на выстрел. Фактически споры играют роль живого шприца, инъецирующего зародыш паразита в клетку хозяина. После завершения процесса размножения и спорообразования в одном хозяине споры выводятся через кишечник или наружные

покровы при жизни хозяина или после его смерти во внешнюю среду, где служат источником заражения новых хозяев. Для большинства изученных видов микроспоридий установлена узкая гостальная и тканевая специфичность. Круг хозяев паразита обычно ограничен одним видом, реже несколькими видами одного рода или семейства.

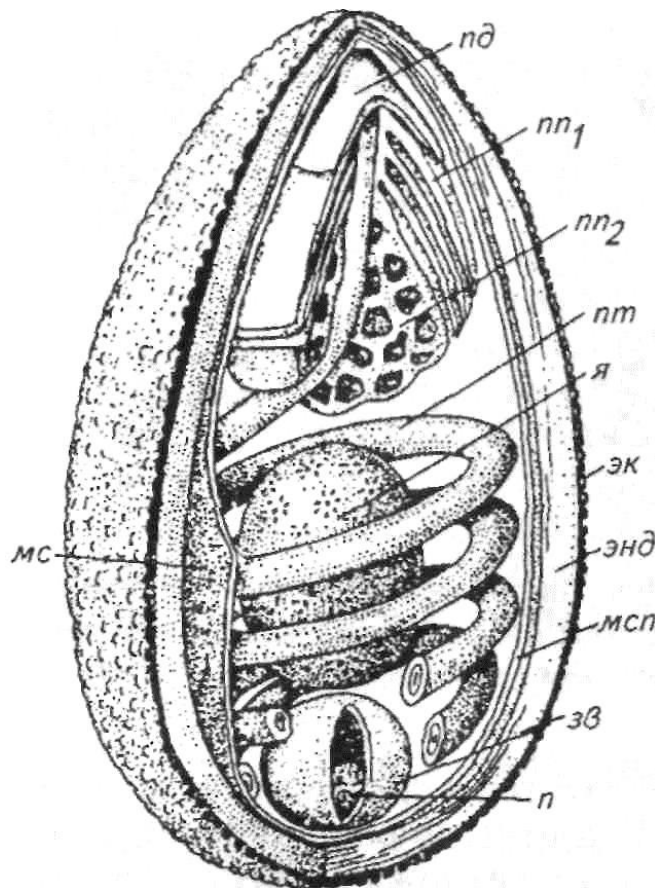


Рисунок 18. Схема строения споры микроспоридий:

пд - полярный диск; лп₁ - пластинчатый полярпласт; лп₂ - пузырчатый полярпласт; лг - полярная трубка; я - ядро; эк - экзоспора; энд - эндоспора; мел - мембрана спороплазмы; зв - задняя вакуоль; л - постеросома; мс - мембрана споронта.

Число микроспоридий, паразитирующих в пресноводных и морских рыбах, в настоящее время приближается к 100 видам, из которых около 25 зарегистрировано в России. Среди описанных видов только немногие представляют опасность для культивируемых рыб, однако с развитием как пресноводной, так и морской аквакультуры постоянно регистрируются новые виды микроспоридий, вызывающие массовые болезни. Микроспоридиозы протекают либо в хронической форме с поражением отдельных клеток, либо в острой форме с инвазией многих клеток пораженного органа. Гибель от заболевания наблюдается чаще среди молоди рыб. Наиболее патогенны микроспоридии, поражающие кишечник или жабры.

У рыб обычно паразитируют представители отряда *Glugeida* и входящих в него семейств *Glugeidae* и *Pleistophoridae*.

Изучение микроспоридий состоит из двух этапов: сбора материала в полевых условиях и изучении его в лабораторных условиях. В полевых условиях готовят водные препараты и мазки. Водные препараты служат для сохранения живых спор паразитов в течение длительного времени. Готовят их следующим образом. Кусочки исследуемой ткани любого органа тщательно измельчают и смешивают с водой. Крупные остатки ткани удаляют, а суспензию спор помещают во флакончик с водой или физиологическим раствором. Затем каплю суспензии спор помещают на предметное стекло и осторожно накрывают покровным. После испарения излишков воды, не допуская появления пузырьков воздуха, края покровного стекла обводят расплавленным глицерин-желатином. Хранят такие препараты в зависимости от качества замазки от нескольких месяцев до одного года. Приготовленные водные препараты изучают под микроскопом, измеряют не менее 25 спор и зарисовывают или фотографируют их.

Из типа ресничных инфузорий (*Ciliophora*) у рыб паразитируют представители классов *Peritricha*, *Spirotricha*, *Rimostomata*, *Curtostomata*, *Suctororia*. Размеры инфузорий 20-80 мкм, и только ихтиофтириус достигает 1-2 мм (рис. 19).

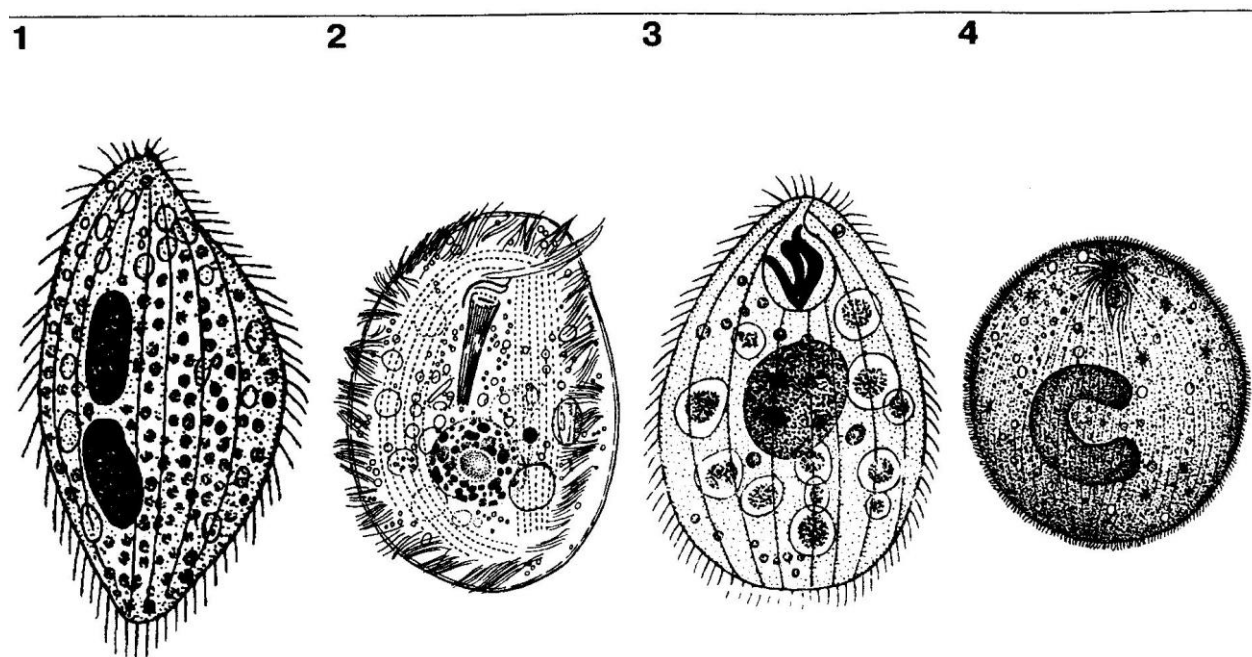


Рисунок 19. Ресничные (*Ciliophora*): 1 – *Hemiophrys branchiarum*; 2 - *Chilodonella hexastica*; 3 - *Tetrachymena pyriformis*; 4 - *Ichthyophthirius multifiliis*.

Форма тела инфузорий постоянна благодаря наличию оболочки - уплотнённого слоя эктоплазмы. В эндоплазме инфузорий находятся два (редко больше) ядра – крупное соматическое (макронуклеус) и генеративное (микронуклеус), а также пищеварительные и сократительные вакуоли. У большинства инфузорий есть ротовое отверстие – цитостом, ведущий в

глотку, высланную ресничками или снабжённую палочковым аппаратом (хилодонеллы). Органеллами движения служат реснички, покрывающие целиком или частично поверхность тела. Размножение инфузорий происходит на теле рыбы, реже в воде делением пополам или многократно повторяющимся делением надвое (палинтомия). У некоторых видов инфузорий отмечается половой процесс. Многие инфузории при наступлении неблагоприятных условий образуют цисты покоя, сохраняющиеся длительное время в водоёме. Цисты образуются для размножения или перестройки ядерного аппарата. Инфузории паразитируют на поверхности тела рыб, в жабрах, часто встречаются в ротовой полости и обонятельных ямках, мочевом пузыре и очень редко – в пищеварительном тракте. Наиболее распространёнными являются инфузории из рода *Chilodonella*, *Trichodina*, *Apiosoma*, *Ichthyophthirius*, *Ambiphrya*. Реже встречаются *Tetrachymena*, *Balantidium*.

Для обнаружения ресничных инфузорий живую рыбу обездвигивают и помещают в кювету. Скальпелем делают соскоб с поверхности тела, помещают его на покровное или предметное стекло, добавив 1-2 капли воды. Делают соскоб с ротовой полости и носовых ямок, помещают на отдельные покровные или предметные стёкла, добавив 1-2 капли воды. Выделяют жаберные дуги, делают соскоб и добавляют несколько капель воды. Просматривают все соскобы под МБС. При обнаружении ихтиофтириуса отбирают крупные трофонты, с помощью пипетки помещают их на чистое предметное стекло, добавив несколько капель воды. Просчитывают количество каждого рода инфузорий в 25 полях зрения микроскопа с подсчетом средней величины, указывают минимальное и максимальное количество инфузорий в поле зрения.

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГЕЛЬМИНТОЗОВ РЫБ

Гельминтозы вызывают паразитические черви, относящиеся к типам плоских (*Plathelminthes*), колючеголовых, или скребней (*Acanthocephales*), и первичнополостных, или круглых (*Nemathelminthes*). В качестве временных паразитов у рыб встречаются пиявки, относящиеся к типу кольчатых червей (*Annelida*).

Плоские черви, паразитирующие у рыб, включают три основных класса: моногеней (*Monogenoidea*), трематод (*Trematoda*) и ленточных (*Cestoda*) червей. В настоящее время в самостоятельные классы выделены *Aspidogastriida* и *Amphilinida*. У них вытянутое в длину тело листовидной или лентовидной формы, сплющенное в дорзовентральном направлении, покрытое кутикулой. Органы прикрепления разнообразны: в виде хитиноидных крючьев. Клапанов, присосок, ботридий и др. Пищеварительная система имеется (моногенеи, трематоды) или отсутствует (цестоды). Нервная система представлена головными ганглиями и продольными стволами, соединёнными кольцевыми перемычками. Органы выделения – протонефридии. Половая система гермафродитная. Развитие – прямое у моногеней, сложное с

чередованием поколений и сменой хозяев у трематод и цестод. Моногенеи паразитируют в основном на жаберных лепестках и поверхности тела (рис. 20), трематоды и цестоды – во внутренних органах, чаще кишечнике.

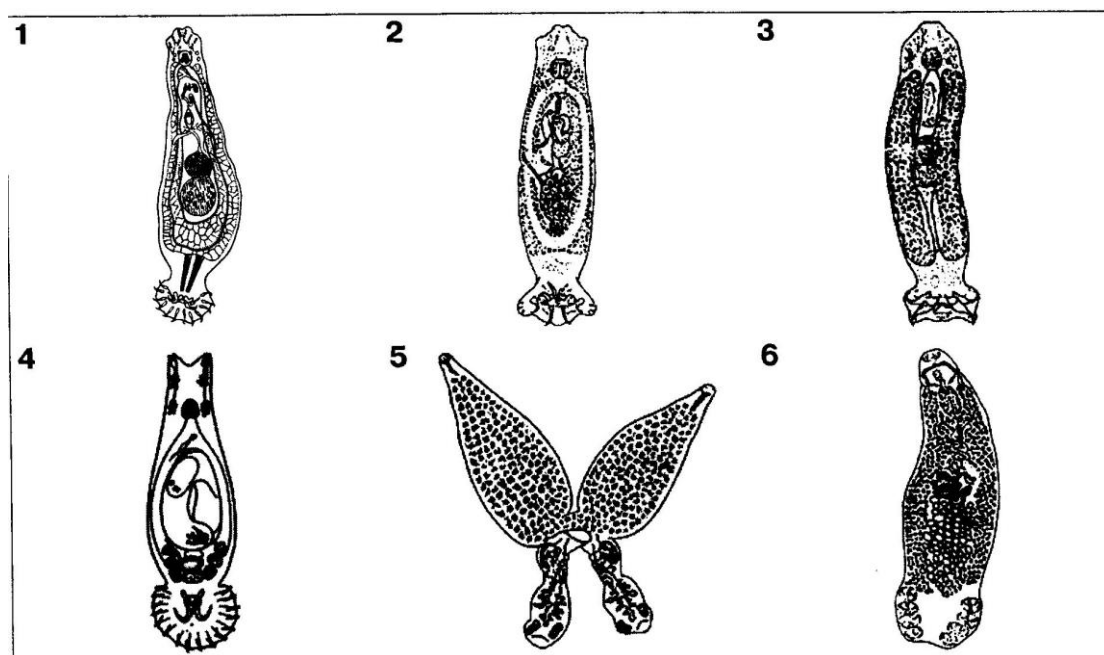


Рисунок 20. Моногенеи (Monogenoidea): 1 – *Dactylogyrus* sp., 2 – *Ancyrocephalus* sp., 3 – *Tetraonchus monenteron*, 4 – *Gyrodactylus salaris*, 5 – *Diplozoon paradoxum*, 6 – *Discocotyle sagittata*.

Величина моногеней от 0,1 до 30 мм. Органы прикрепления хорошо развиты, располагаются на переднем и заднем концах тела. На переднем конце они представлены головными выростами, валиками, ямками, присосками, которые служат в основном для фиксации паразитов во время питания. На заднем конце тела располагается прикрепительный диск, с помощью которого паразит закрепляется на теле хозяина. На прикрепительном диске расположены различные хитиновые образования: срединные и краевые крючья, соединительные пластинки, клапаны, присоски, которые служат важными систематическими признаками. У пресноводных рыб паразитируют представители 6 семейств моногеней.

Для обнаружения моногеней живую рыбу обездвиживают и помещают в кювету. Отрезают плавники и помещают их в чашки Петри с чистой водой. Делают соскоб с поверхности тела, помещают его в каплю воды на предметное стекло. Вырезают жаберные дуги, делают соскоб. Делают соскоб с ротовой полости и носовых ямок. С помощью препаровальных игл и тонко оттянутой пипетки отбирают обнаруженных червей, переносят их на предметное стекло в каплю чистой воды, освобождают от остатков тканей и слизи.

Под микроскопом рассматривают выделенных моногеней сначала под малым, а затем под большим увеличением. Рассматривают и зарисовывают

внешний вид, наличие пигментных глазков, строение пищеварительной и половой систем, прикрепительных органов и копулятивного аппарата.

Для приготовления неокрашенных препаратов на стекло, где были помещены моногены, добавляют каплю 1%-ного раствора аммиака, кусочком фильтровальной бумаги удаляют воду, помещают под МБС, расправляют паразитов. Глицерин-желатин (на кончике скальпеля) нагревают над пламенем спиртовки до расплавления смеси, наносят каплю на стекло с паразитами. К краю капли осторожно приближают чистое покровное стекло и медленно, поддерживая его препаровальной иглой, опускают на каплю глицерин-желатина, следя за тем, чтобы под стеклом не оставались пузырьки воздуха. Под МБС осторожно тыльной стороной препаровальной иглы прижимают покровное стекло, чтобы уменьшить слой глицерин-желатина, и расплющивают паразитов, у которых в таком положении хорошо просматривается хитиноидное вооружение. Для длительного хранения препарата по краям покровного стекла с помощью тонкой деревянной палочки наносят слой специальной замазки, состоящей из воска и канифоли, что предохраняет препарат от высыхания. На один из концов предметного стекла наклеивают этикетку с указанием хозяина, даты, органа или ткани, места вылова, вида моногены.

Тело трематод покрыто кутикулой, под которой расположен кожно-мускульный мешок. Пространство, ограниченное кожно-мускульным мешком, заполнено паренхимой, в которой располагаются внутренние органы. Прикрепительные образования представлены различными присосками, строение и количество которых у разных представителей может варьировать (рис. 21). У сосальщиков, обитающих в кровяном русле, присоски отсутствуют.

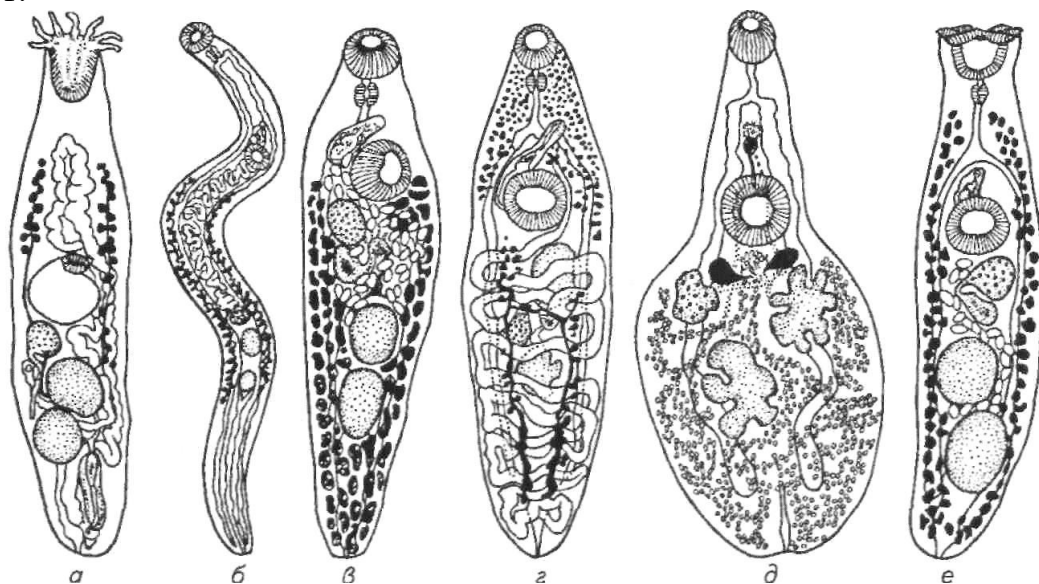


Рисунок 21. Половозрелые трематоды, паразитирующие у пресноводных рыб:
a - Vucephalus polymorphus; б - Azygia lucii; в - Allocreadium isoporum; г - Sphaerostoma bramae; д - Phyllodistomum folium; e - Bunodera luciopercae.

Пищеварительная система трематод начинается с ротового отверстия, расположенного на переднем конце тела, затем следуют глотка и пищевод, переходящий в кишечник. Кишечник чаще состоит из двух стволов, оканчивающихся слепо и изредка открывающихся наружу. Реже кишечник мешковидный.

Выделительная система трематод протонефридиального типа. От лежащих в паренхиме протонефридиев отходят протонефридиальные капилляры, сливающиеся в выделительные каналы больших размеров, которыепадают в выделительный (мочевой) пузырь.

Нервная система трематод состоит из парного надглоточного ганглия с отходящими назад нервными стволами, соединенными поперечными комиссурами. Органы чувств развиты слабо и лишь изредка представлены короткими чувствительными волосками и остатками пигментных глазков, которые бывают у личинок.

Трематоды в основном гермафродиты. Мужская половая система представлена двумя, реже одним или многими семенниками, от которых отходят семявыносящие каналы. На конце мужской половой системы обычно располагается мускулистый циррус. Женская половая система состоит из яичника и отходящих от него выводящих путей и желточников. Строение половой системы, как мужской, так и женской, является важным систематическим признаком.

Трематоды — паразиты со сложным циклом. Для своего развития они требуют, как правило, одного или двух промежуточных хозяев. Взрослые сосальщики (мариты) паразитируют в кишечнике позвоночных животных (рыбы, птицы, млекопитающие). Первым промежуточным хозяином являются моллюски, вторым — рыбы, амфибии и водные беспозвоночные. В некоторых случаях второй промежуточный хозяин может отсутствовать.

Цикл развития трематод происходит по следующей схеме. Взрослые паразиты обитают в кишечнике различных рыбоядных птиц (чаек, крачек, цапель и др.). Яйца гельминтов вместе с испражнениями птиц попадают в воду, где из них вылупляются личинки — мирацидии, тело которых покрыто ресничками. Мирацидии плавают в воде и проникают в первого промежуточного хозяина — моллюска. В моллюске мирацидий локализуется в печени или половой железе. Здесь личинка сбрасывает ресничный покров и превращается в бесформенный неподвижный мешок — спороцисту. Спороциста растет и внутри нее из особых клеток (зародышевых шаров) путем партеногенеза образуется следующая стадия развития — редии. Они отличаются от спороцисты подвижностью и присутствием короткого мешковидного кишечника. После образования редий спороциста лопается, вышедшие из нее редии остаются в теле моллюска. Далее в теле редий начинают образовываться личинки следующего поколения — церкарии. Они похожи на взрослого червя и отличаются от него только наличием мускулистого хвоста и отсутствием половых органов. Через специальное отверстие церкарии выходят из редий, а затем покидают и моллюсков. Плавающие в воде с помо-

шью мускулистого хвоста церкарии должны проникнуть в рыбу, при этом они отбрасывают хвост и превращаются в следующую личиночную стадию — метацеркарий (рис. 22).

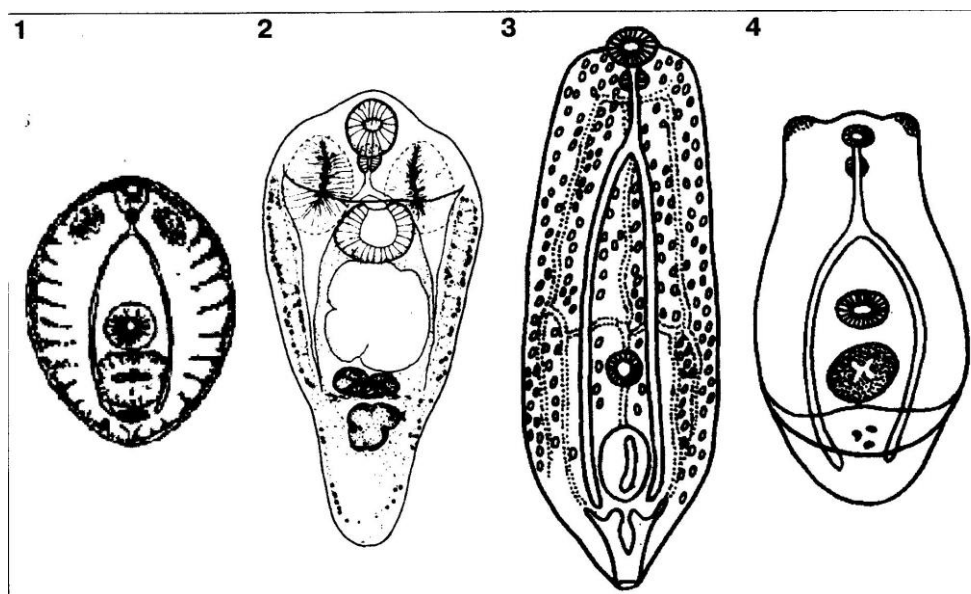


Рисунок 22. Метацеркарии трематод:
1 – *Ichtyocotylurus pileatus*, 2 – *Apatemom* sp., 3 – *Tylodelphys clavata*,
4 – *Diplostomum spathaceum*.

Метацеркарии отличаются от взрослых гельминтов только отсутствием развитых половых органов и локализуются в мускулатуре, глазах, различных внутренних органах рыбы. Рыбоядные птицы заражаются паразитами после переваривания инвазированной рыбы. В кишечнике птиц метацеркарии продолжают развиваться, становятся половозрелыми гельминтами (маритами), которые продуцируют яйца и весь цикл начинается снова.

Для обнаружения трематод живую рыбу обездвигивают, кладут в кювету. Тщательно осматривают рыбу, регистрируя различные отклонения в окраске и целостности жабр, покровов тела (наличие мозаичности жабр, очагов некроза, точечных кровоизлияний, темных пигментных пятен). Делают надрезы кожи вокруг имеющихся тёмных пятен, отгибают обрезанный кусок кожи, скальпелем снимают цисту трематоды и переносят её в каплю физиологического раствора или воды. Вырезают жаберные лепестки и компрессионным способом просматривают их под МБС. Возможно нахождение отбросивших хвост церкариев, проникших через жабры в рыбу. Яйца и церкариев выделяют препаровальными иглами и переносят пипеткой в каплю воды на предметное стекло (чтобы вода быстро не подсохла, закрывают стекло чашкой Петри или большим часовым стеклом).

Вскрывают рыбу и внимательно осматривают внутренние органы, брыжейку, полость тела, где возможна локализация метацеркариев трематод. Обнаруженных паразитов (отдельно с каждого органа) на кончике

скальпеля переносят в солонку с водой. Выделяют внутренние органы и помещают в отдельные чашки Петри. Сердце кладут в часовое стекло и ножницами разрезают его. Кровь из сердца просматривают под МБС. При наличии гельминтов переносят их в отдельную солонку с физиологическим раствором. Ножницам делают разрез вдоль всего кишечника рыбы (включая желудок и глотку), производят соскоб с его внутренней поверхности. Всё содержимое соскоба кладут на стекло для вскрытия. Небольшую часть содержимого переносят в каплю воды на стекло для вскрытия, накрывают предметным стеклом и, сдавив содержимое, просматривают его под МБС, считая и выделяя найденных паразитов. Таким же образом просматривают всё содержимое соскоба.

Обнаруженных гельминтов переносят в отдельную солонку с дистиллированной водой. Выделяют головной мозг рыбы, обратив внимание на наличие кровоизлияний, и просматривают компрессионным способом. Обнаруженных метацеркариев выделяют и помещают в солонку с водой.

Далее извлекают глазное яблоко, подрезают его у основания тонкими ножницами, кладут на предметное стекло. Разрезают глаз ножницами и, выделив стекловидное тело и хрусталик, просматривают их под МБС. Хрусталик помещают между двумя предметными стёклами, сдавив его до появления «белого ядра» в центре, и просматривают под МБС. Стекловидное тело просматривают компрессионно. Снимают одно предметное стекло, с помощью препаровальных игл и пипетки с тонко оттянутым концом выделяют метацеркарии и помещают на 2-3 ч в солонку с водой. Затем отбирают из воды живых метацеркариев, переносят их в неглубокую пробирку-поплавок и заливают уксуснокислым кармином на 15-20 мин. Убирают пипеткой кармин и добавляют солянокислый спирт (70°-ный спирт). Дифференцировку органов по окраске проводят под МБС. Обезвоживают гельминтов, пропустив их (добавляя и отсасывая спирт) через спирты возрастающей крепости (70°-ный, 80°-ный, 90°-ный и 96°-ный) и выдерживая в каждом по 10 мин. Просветляют метацеркариев в диметилфталате. Для этого гельминтов осторожно помещают в бюксу, в которую предварительно наливают спирт (96°-ный) и диметилфталат. В начале просветления метацеркарии располагаются на границе спирта (верхний слой) и диметилфталата (нижний слой). После просветления (пропитки диметилфталатом), когда гельминты опускаются на дно бюксы, их тонкой пипеткой переносят на предметное стекло. На другое чистое предметное стекло наносят каплю бальзама, в которую препаровальной иглой помещают по 5-6 метацеркариев, и накрывают покровным стеклом, контролируя степень сдавливания под МБС. Оформляют на препарат этикетку.

Освобождённую от тканей и слизи цисту гельминта переносят в каплю воды на предметное стекло. Стекло помещают под МБС, с помощью обычной препаровальной и специальной иглы Сударикова (конец которой представляет собой расплющенное и слегка изогнутое в виде ложки ушко швейной иглы) осторожно разрывают внешнюю и внутреннюю оболочки цисты и

освобождают личинку. Фиксацию и окраску личинок и зрелых трематод в дальнейшем осуществляют одинаково. Вначале обездвигивают гельминта, нагрев его на часовом или на предметном стекле с водой до 60-70°С (до появления пара). Помещают гельминтов между предметными стеклами (личинки можно прессовать между предметным и покровным стёклами), опускают в чашку Петри, регулируя степень сдавливания грузиками от разновесов (гельминт должен быть хорошо расправлен, но не раздавлен!). Придерживая иглой или пинцетом верхние стенки, заливают в чашку Петри 70°-ный спирт на 10-20 мин. Зафиксированных таким образом трематод можно хранить в фиксаторе в течение длительного времени. Для приготовления тотального препарата гельминтов отмывают в дистиллированной воде до полного удаления фиксатора, для чего их помещают в воду на 0,5-2 часа. Для окраски отмывших гельминтов заливают водным раствором квасцового кармина. Время окраски составляет от 10 до 30-60 мин в зависимости от размеров объекта и плотности его покровов. Хорошо окрашенных гельминтов промывают водой и заливают солянокислым спиртом, контролируя под МБС степень дифференцировки органов и тканей по окраске. Пипеткой отсасывают солянокислый спирт и пропускают гельминтов через спирты возрастающей крепости (70°-ный, 80°-ный, 90°-ный и 96°-ный). Для просветления червей используют диметилфталат (иногда гвоздичное масло). После окончания просветления гельминтов переносят в каплю канадского бальзама на предметное стекло и накрывают покровным стеклом, регулируя степень сдавливания под МБС. На приготовленный препарат наклеивают этикетку.

Класс ленточных червей включает в себя 9 отрядов, из которых в костистых пресноводных рыбах на взрослой фазе встречаются представители четырех отрядов: *Caryophyllidea*, *Pseudophyllidea*, *Proteocephalidea* и *Nippo-taeniidea*. Представители четырех других отрядов (*Trypanorhyncha*, *Diphyl-lidea*, *Tetraphyllidea* и *Lecaniccephalidea*) во взрослом состоянии паразитируют в акулах и скатах, а в костистых морских и проходных рыбах встречаются только их личинки — плероцеркоиды. Девятый отряд — *Cyclophyllidea* — объединяет высших цестод — паразитов теплокровных животных, у которых личиночные формы отдельных видов могут развиваться в различных внутренних органах пресноводных рыб.

Тело ленточных червей молочно-белого цвета, плоское, лентовидное, состоит из головки (сколекса) и множества члеников (проглоттид), составляющих стробилу. Число члеников может достигать сотен и даже тысяч. У некоторых представителей этого класса, в частности отряда *Caryophyllidea*, тело не имеет члеников и выглядит как сплошная лента (рис. 23).

Длина тела некоторых цестод может достигать 10—15 м. Половозрелые ленточные черви чаще всего паразитируют в кишечнике, личиночные стадии (плероцеркоиды) — в полости тела и других органах и тканях рыб.

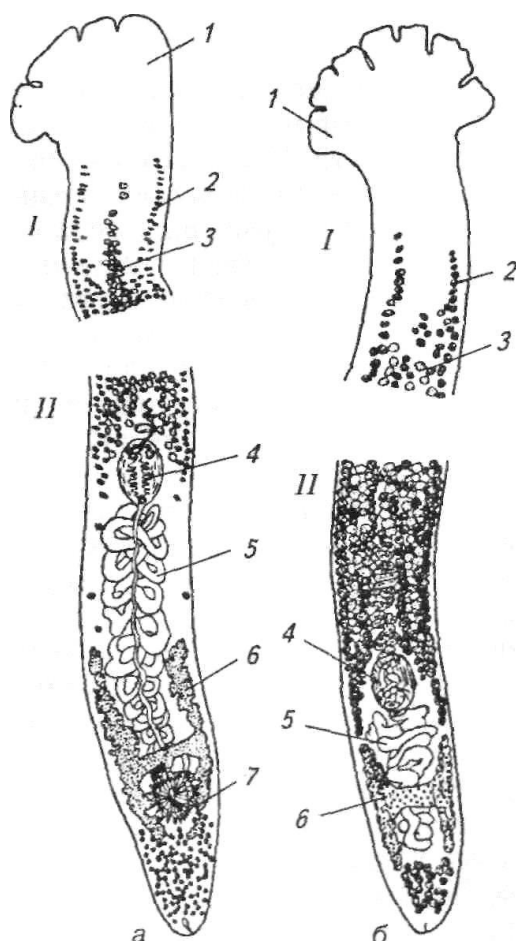


Рисунок 23. Возбудители кавиоза и кариофилоза:

***а* - *Khawia sinensis*; *б* - *Saryophyllaeus fimbriiceps*; I и II - передний и задний концы цестод; 1 - сколекс; 2 - желточники; 3 - семенники; 4 - сумка цирруса; 5 - матка; 6 - яичник; 7 - половая бурса.**

Сколекс цестод служит для прикрепления и потому снабжен различными органами, приспособленными для этого: ботриями, ботридиями, присосками, хоботками. Прикрепительные органы надежно удерживают гельминта в кишечнике (рис. 24).

Наиболее примитивными органами прикрепления являются ботридии, которые представляют собой присасывательные ямки и бороздки на головке (1-4 у гвоздичников). Ботридии более разнообразны. Это - хорошо обособленные прикрепительные органы с развитой мускулатурой, располагающиеся на брюшной или спинной стороне сколекса - округлые, полые образования, снабженные собственной сильной мускулатурой, например у протеоцефалюсов. Хоботки - мышечные выросты, расположенные в верхней части головки; они могут втягиваться в специальное хоботное влагалище (четыреххоботники); хоботки обычно вооружены крючьями. Помимо хоботка хитиновые крючья разнообразной формы и величины могут быть расположены на ботридиях (триенофорусы). За головкой следует шейка - зона роста, где формируются членики. Размер шейки различен. Молодые членики находятся сразу же за шейкой, старые - по мере роста червя отодви-

гаются все дальше от нее. В каждом членике имеется набор половых органов, которые развиваются в определенной последовательности: сначала закладываются элементы мужской половой системы, позднее женской, и членики становятся гермафродитными. Последние членики стробилы почти целиком заполнены маткой, набитой яйцами.

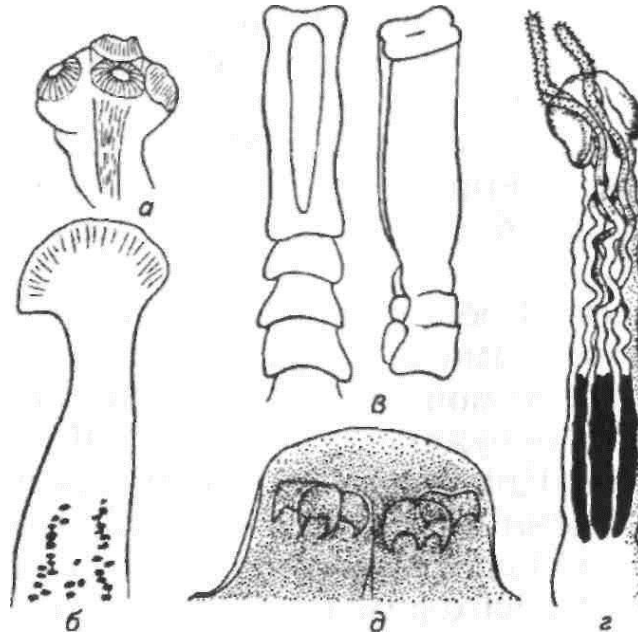


Рисунок 24. Органы прикрепления цестод:
a - присоски *Silurotaenia siluri*; *б* - ботрии *Caryophyllaeus laticeps*; *в* - ботридии *Bothriophthalmus scorpii*; *г* - хоботок *Tetraerhynchus*; *д* - крючья *Triaenophorus meridionalis*.

Тело ленточных червей покрыто кутикулой, под которой находится кожно-мышечный слой. Полости тела у них нет, и пространство между внутренними органами заполнено губчатой паренхиматозной тканью. Под кожно-мышечным слоем расположены продольные и поперечные мышцы.

Нервная система цестод представляет собой центральное нервное кольцо, располагающееся в головке. От него вперед и назад отходят продольные, нервные стволы, которые в каждом членике соединяются между собой поперечными кольцевыми комиссурами.

Выделительная система цестод состоит из мерцательных клеток, располагающихся в паренхиме. От них отходят мелкие каналцы, которые соединяются с выводными протоками (их 2 или 4). Они проходят в боковых частях члеников (соединяясь между собой комиссурами), в конце стробилы объединяются в экскреторный пузырек, открывающийся наружу. У нечленистых червей (гвоздичников) и ремнецов поперечные комиссуры отсутствуют, и продольные выделительные протоки соединяются между собой беспорядочной сосудистой сетью.

Питание цестод происходит путем всасывания всей поверхностью тела через кутикулу, на которой имеются микроскопические микротрихии,

имеющие сложное строение, отличное от микроворсинок других плоских червей.

Половая система у расчлененных цестод самостоятельная в каждом членике, у нерасчлененных цестод имеется всего один половой комплекс. Все цестоды рыб - гермафродиты. Мужской половой аппарат состоит из семенников и выводных путей. Количество семенников различно: чаще их десятки, даже сотни, реже единицы. Они расположены в паренхиме, ближе к спинной стороне тела. От семенников отходят тонкие семявыносящие каналы, которые сливаются в семяпровод, причем последний на конце может преобразовываться в семенной пузырек. Семяпровод идет к копулятивному органу - циррусу, способному выпячиваться; циррус расположен в мышечном мешке, называемом сумкой цирруса. Входящая в сумку цирруса часть семяпровода является семяизвергательным каналом. Циррус и влагалище открываются в половую клоаку. Женская половая система цестод состоит из яичников, желточников, дополнительных желез, протоков и резервуаров, служащих для хранения и выведения половых продуктов. В каждом половом комплексе имеется один, чаще двухлопастной яичник, от которого отходит яйцевод. В него открывается семяприемник и далее общий проток ведет к оотипу, в который поступают протоки желточников и железы Мелиса, способствующей образованию скорлуповой оболочки. В оотипе формируются яйца. Желточники чаще состоят из многочисленных фолликулов, которые располагаются в паренхиме, либо вокруг внутренних органов, либо в боковых частях члеников. От желточников отходят мелкие и тонкие желточные протоки, сливающиеся в два крупных протока, которые далее объединяются в один и открываются в оотип. Вагина представляет собой трубку, связывающую женское половое отверстие с семяприемником, находящимся около оотипа. От оотипа берет начало матка, которая у многих цестод рыб имеет вид сильно извитой трубки, иногда мешковидной. Зрелые яйца выходят из матки в воду через ее отверстие, открывающееся самостоятельно на спинной или брюшной стороне членика или нерасчлененного червя. Помимо этого, зрелые яйца могут попадать в воду вместе с отторгнутыми члениками стробилы. При совокуплении цестод циррус выпячивается и проникает в вагину этого же или соседнего членика или членика другой стробилы, лежащей рядом. Соответственно происходит самооплодотворение или перекрестное оплодотворение.

Эмбриональное развитие цестод рыб происходит в яйце, находящемся в большинстве случаев в матке, и попадающие в воду зрелые яйца содержат сформированных эмбрионов, имеющих 6 крючьев (онкосфера) или 10 крючьев (ликофора). В воде из яйца выходит личинка, называемая корацидием, которая некоторое время ведет свободный образ жизни. Тело корацидия покрыто ресничками, имеет 3 пары подвижных эмбриональных крючьев. У некоторых цестод личинки не выходят из яйца, а попадают в промежуточного хозяина при поедании им зрелых яиц паразита.

Дальнейшее развитие цестод происходит с одной или двумя сменами промежуточных хозяев. Первым промежуточным хозяином цестод рыб обычно являются низшие ракообразные (чаще всего веслоногие), бокоплавы, мизиды, реже малощетинковые черви (у гвоздичников) и другие беспозвоночные. Яйца с онкосферой (у гвоздичников) или свободноплавающие корацидии (у ремнецов, ботриоцефалюса, триенофоруса и др.) заглатываются беспозвоночными животными, сквозь стенки их кишечника проникают в полость тела, превращаясь в процеркоида - первую паразитическую стадию цестод. Процеркоид в полости тела промежуточного хозяина увеличивается в размерах; развиваются его внутренние системы (мышечная ткань, выделительная система). На заднем конце его образуется особый придаток - церкомер, в котором находятся зародышевые крючья. Дальнейшее развитие цестод различается в зависимости от того, с одним или с двумя промежуточными хозяевами протекает жизненный цикл гельминта. Если цикл развития происходит при участии одного промежуточного хозяина (гвоздичники, ботриоцефалюс, протеоцефалюс), то уже у процеркоида формируются прикрепительные органы, характерные для взрослых червей, закладывается и развивается половая система. Попадая вместе с пищей в кишечник окончательного хозяина, процеркоид прикрепляется к стенкам кишечника и развивается во взрослого червя. Если цикл развития происходит при участии двух и более промежуточных хозяев, то процеркоид вместе с первым промежуточным хозяином (ракообразным) попадает в кишечник второго промежуточного хозяина, проникает в полость его тела (ремнецы), печень (триенофорус), мускулатуру (лентец широкий), где теряет церкомер и превращается в следующую личиночную стадию - плероцеркоид. Плероцеркоид растет. У ремнецов развиваются внутренние органы, заканчивается органогенез половой системы, у лентецов плероцеркоид слабо дифференцирован и внутренние органы его еще не заложены. Инвазионного состояния плероцеркоиды ремнецов достигают через 6-14 мес. Далее плероцеркоид вместе со вторым промежуточным хозяином попадает в кишечник окончательного хозяина, где достигает половой зрелости и продуцирует яйца.

Для обнаружения цестод живую рыбу обездвигивают, кладут в кювету. Вскрывают брюшную полость и тщательно осматривают внутренние органы. Осторожно выделяют комплекс внутренних органов, а из них (не повреждая!) освобождают кишечник. Переносят его на стекло для вскрытия и разрезают маленькими ножницами вдоль. Если кишечник очень длинный, его исследуют по частям. Для этого его разрезают на несколько частей и уже каждую часть разрезают вдоль. Осматривают содержимое и извлекают пинцетом всех ленточных червей, видимых невооруженным глазом. Затем отделяют содержимое кишечника и рассматривают его под лупой или биноклем, далее делают соскоб со слизистой кишечника. Всё это исследуют, придавливая между двумя стеклами, компрессионным способом. Если исследуют хищную рыбу, которая имеет пилорические придатки, то их тоже осторожно разрезают вдоль, чтобы не повредить головок ленточных червей,

которые часто прикрепляются в них. Кроме того, рассматривают мускулатуру, гонады, печень, где могут быть личиночные стадии цестод.

Выделенного, освобождённого от слизи и отмытого червя помещают на предметное стекло в каплю чистой воды. Накрывают покровным стеклом (если гельминт большой, то предметным), рассматривают под лупой или биноклем наличие или отсутствие членистости, строение головки, прикрепительных органов и др.

Ленточных червей обязательно окрашивают. Наиболее эффективна окраска квасцовым кармином.

Колючеголовые черви, или скребни двух классов (*Eoacanthocephala* и *Palacanthocephala*) чаще встречаются у пресноводных, реже у морских рыб. Некоторые из них вызывают патологические изменения стенки кишечника, сопровождающиеся гибелью рыбы (рис 25).

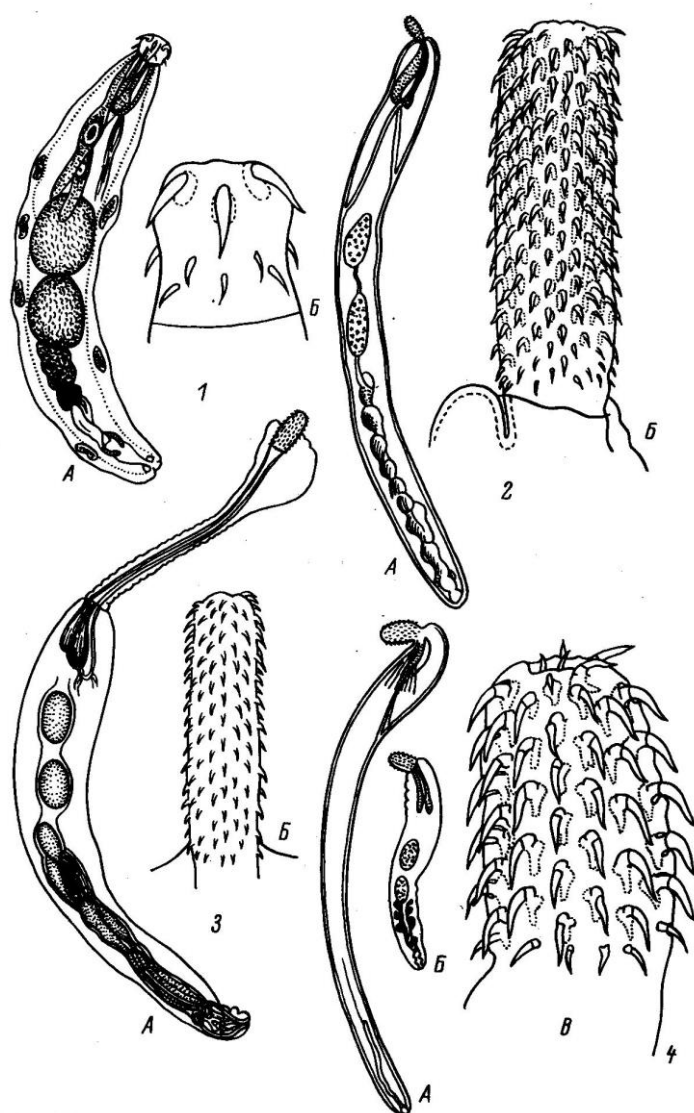


Рисунок 25. Скребни – паразиты кишечника рыб: 1 – *Neoechinorhynchus rutili*: А – самец, Б – хоботок; 2 - *Echinorhynchus gadi*: А – самец, Б – хоботок; 3 - *Pomphorhynchus perforator*: А – самец, Б – хоботок; 4 - *Acanthocephalus lucii*: А – самка, Б – самец, В – хоботок.

Тело скребней обычно белого, коричневого или оранжево-красного цвета, удлиненное, иногда несколько уплощенное, чаще цилиндрическое, сужающееся к заднему концу. На переднем конце тела находится цилиндрический, реже сферический втяжной хоботок, вооруженный различной формы крючьями. Хитинизированные крючья хоботка могут быть расположены спиральными рядами или в шахматном порядке, при этом хорошо видны спиральные и продольные ряды. Хоботок является основным органом прикрепления паразита к стенке кишечника хозяина. Основание хоботка никогда не покрыто крючьями и называется шейкой. Хоботок при помощи особых мышц втягивается в полость хоботкового влагалища, которое представляет собой цилиндрический мускулистый мешок, спускающийся в шейку и тело. Возле шейки начинаются парные органы — лемниски, лежащие по бокам хоботкового влагалища. Предполагают, что лемниски способствуют втягиванию и вытягиванию хоботка. Тело покрыто кутикулой и представляет собой мешковидное образование, в полости которого заключены внутренние органы. На поверхности тела расположены шипы, чаще в передней части. Кожно-мускульный мешок состоит из кольцевых и продольных слоев мышц. Нервная система представлена центральным ганглием, лежащим внутри хоботкового влагалища, и отходящими от него к хоботку двумя стволами и парными боковыми задними нервами. Пищеварительная система отсутствует, питание осуществляется осмотическим путем. Выделительная система представлена мерцательными клетками, отходящими от них каналами, впадающими в общий проток.

Скребни раздельнополые. Самцы обычно мельче самок. Самец имеет два семенника с выводящими протоками, цементные железы, половую и копулятивную бурсу и совокупительный орган - пенис. Бурса при совокуплении выворачивается наружу. Цементные железы выделяют клейкий секрет, заклеивающий половое отверстие самки после совокупления. Самка имеет два яичника, которые на ранней стадии развития распадаются на отдельные группы яйцевых клеток. Выводящим аппаратом являются маточный колокол, яйцеводы, матка и влагалище. Полость маточного колокола сообщается с полостью тела, где развиваются яйца. От маточного колокола отходят два яйцевода, открывающиеся в матку. За маткой следует влагалище, открывающееся на заднем конце тела. Яйца скребней вытянуто-овальные, почти веретенообразные. Эмбриональное развитие скребней проходит в яйце, находящемся еще в полости тела самки. Яйцо, содержащее эмбриональную личинку, выделяется в кишечник рыбы, а из него в воду.

В цикле развития скребней нет свободноживущей фазы во внешней среде. Развитие скребней проходит при участии промежуточных хозяев, как правило, ракообразных: бокоплавов, водяных осликов, ракушковых рачков. Промежуточный хозяин заглатывает яйцо. В кишечнике рачка из яйца выходит личинка, называемая акантором. Акантор проходит через стенку кишечника рачка в полость его тела и окружается оболочкой. Здесь он развивается дальше, образуется акантелла, напоминающая взрослого червя с втянутым

хоботком и недоразвитыми половыми органами. Рыбы заражаются при поедании зараженных акантеллами рачков. Рыба может быть окончательным и резервуарным хозяином скребней. Если рыба заглотит несвойственный ей вид скребня, например, из рода *Corynosoma* — паразита морских млекопитающих, то такие личинки переходят из кишечника в полость тела, затем в мышцы и другие органы, где инцистируются. Для коринозом рыба является резервуарным хозяином. Они могут скапливаться в мышцах рыб в огромном количестве (до 100 экз. и более) и значительно ухудшать качество рыбной продукции.

Половозрелые скребни локализируются в кишечнике и пилорических придатках рыб и причиняют им значительный ущерб. Глубоко вонзаясь хоботком в стенку кишечника, скребни вызывают его воспаление, проникая иногда и в полость тела. Деформация стенки, геморрагии, острая анемия являются обычно последствием заражения рыб скребнями.

Для обнаружения скребней живую рыбу обездвигивают и кладут в кювету. Вскрывают рыбу и выделяют органы пищеварительной системы, переносят их в чашку Петри. Ножницами осторожно производят разрез вдоль кишечника и просматривают его на наличие скребней, внедрившихся в стенку кишки. Скальпелем с внутренней поверхности кишечника производят глубокий соскоб (если черви крупные или наблюдается прободение стенки кишечника, выделение гельминтов вместе с хоботками производят с помощью препаровальных игл). Слизь с паразитами переносят в чашку Петри. Добавляют немного воды и препаровальными иглами освобождают червя, причем особенно тщательно его хоботок, от слизи и тканей хозяина.

Освобождённого от слизи скребня кладут на предметное стекло в каплю воды или молочной кислоты. Стекло помещают под МБС и рассматривают червя. Препаровальными иглами расправляют тело червя, его хоботок и накрывают покровным или другим предметным стеклом, слегка придавив передний конец, чтобы хоботок оставался вывернутым. Рассматривают и зарисовывают общий вид скребня, хоботок и расположение на нём крючьев. Зарисовывают форму и измеряют хоботок и крючья.

Отмытого, с тщательно очищенным хоботком скребня помещают на предметное стекло в каплю воды, переносят под МБС, накрывают другим предметным стеклом, помещая сверху небольшой груз (если червь крупный, то масса груза может достигать 1 кг и выше), добившись, чтобы хоботок был вывернут наружу, а тело червя хорошо сдавлено. Фиксируют червя 70°-ным спиртом или 4 %-ным раствором формалина, подпуская из пипетки фиксатор между стеклами. Время фиксации 1 час. Зафиксированного в таком положении скребня можно длительное время хранить в пробирке с фиксатором. После фиксации червя переносят в солонку с дистиллированной водой и тщательно (в течение 0,5-2 ч) отмывают от фиксатора.

Последующую окраску скребней, дифференцировку в солянокислом спирте, обезвоживание, просветление и заключение в бальзам не обязатель-

но. Просветлённых в молочной кислоте червей можно заключить в глицерин-желатин.

Круглых червей отличает наличие первичной полости тела, в которой располагаются внутренние органы. Тело нематод, как правило, удлинённое, нитевидной или веретеновидной формы, редко мешковидное или шаровидное, обычно округлое в поперечнике (рис. 26). Длина тела чаще от нескольких миллиметров до нескольких десятков миллиметров. Оно покрыто плотной эластичной кутикулой, которая может иметь исчерченность и образовывать шипы, валики, бугорки и другие структуры. На головном конце нематод расположено ротовое отверстие, часто окруженное губами, сосочками.

Пищеварительная система нематод начинается ротовой полостью, иногда окруженной ротовой капсулой. Далее следуют глотка, пищевод, обычно состоящий из двух отделов - мышечного и железистого, называемого желудочком, и кишечник.

Нематоды обычно раздельнополы. Самцы часто мельче самок. Мужская половая система включает в себя трубчатый семенник и семяпровод, в свою очередь, состоящий из семенного пузырька и семявыносящего канала. Кроме того, на заднем конце тела у самцов имеются вспомогательные образования - спикулы, рульки, с помощью которых он удерживает самку при половом акте. Строение и размеры этих образований имеют значение при определении вида нематод. Нематоды делятся на яйцекладущих и живородящих. Форма и размеры яиц нематод используются как систематические признаки. Жизненные циклы нематод отличаются большим разнообразием. Рыбы могут служить для них как окончательными, так и промежуточными хозяевами. Промежуточными хозяевами для нематод рыб часто служат различные кормовые беспозвоночные.

Половозрелые нематоды чаще локализуются в кишечнике рыб, личиночные стадии под чешуей, в мускулатуре и в различных внутренних органах.

Для обнаружения нематод живую рыбу обездвиживают, кладут в кювету. Тщательно осматривают рыбу, обратив особое внимание на внутреннюю сторону жаберных крышек, чешуйные кармашки и плавники. Обнаруженных червей препаровальными иглами выделяют из тканей, переносят в каплю физиологического раствора и освобождают от слизи и остатков тканей хозяина. Помещают в солонку с физиологическим раствором и метят временной этикеткой. Вскрывают рыбу и внимательно осматривают стенки брюшной полости, печень, гонады, брыжейку. Обнаруженных нематод переносят в солонку с физиологическим раствором или в каплю воды на предметное стекло. Компрессионным способом просматривают внутренние органы – печень, брыжейку, гонады, плавательный пузырь. Готовят соскоб с внешней и внутренней поверхностей плавательного пузыря и просматривают под МБС. Червей, выделенных из разных органов и тканей рыбы, обрабатывают и хранят в дальнейшем раздельно. Вскрывают кишечник и про-

сматривают его внутренние стенки и содержимое. При наличии червей их выделяют на предметное стекло, очищают и переносят в солонку с водой.

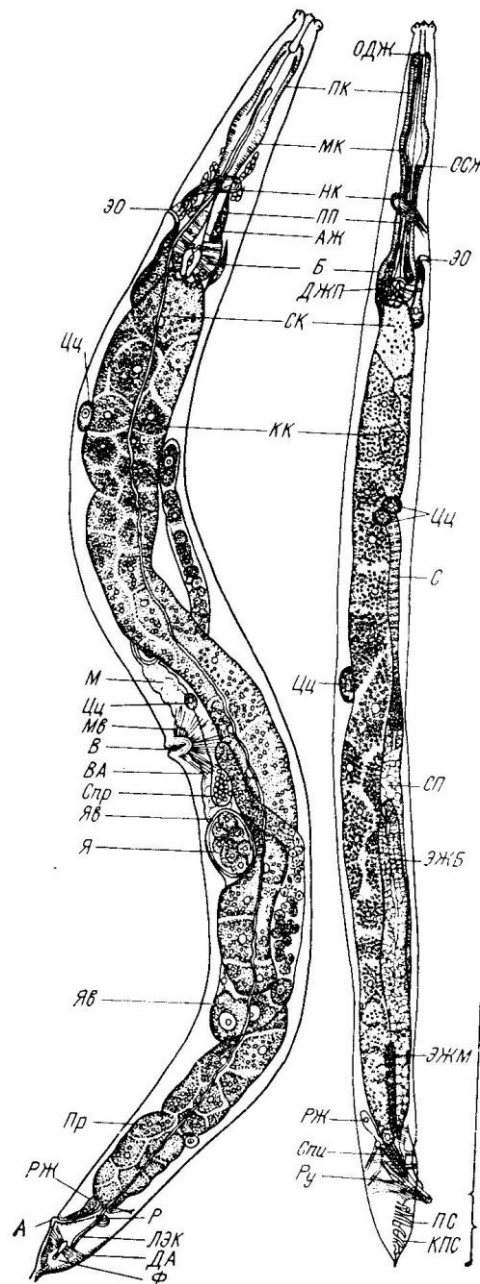


Рисунок 26. Общий вид и строение нематод (самка и самец):

А – анус; **АЖ** – амфидальная железа; **Б** – бульбус пищевода; **В** – вульва; **ДА** – депрессор ануса; **ДЖП** – дорсальная железа пищевода; **КК** – кардиальная область кишечника; **КПС** – крылья половых сосочков; **ЛЭК** – латеральный экскреторный канал; **М** – матка; **Мв** – мышцы вульвы; **МК** – метакорпус пищевода; **НК** – нервное кольцо; **ОДЖ** – отверстие дорсальной железы пищевода; **ОСЖ** – отверстие субвентральной железы пищевода; **ПК** – прокорпус пищевода; **ПП** – перешеек пищевода; **Пр** – преректум; **ПС** – половые сосочки; **Р** – ректум; **РЖ** – ректальные железы; **Ру** – рулек; **С** – семенник; **СК** – средняя кишка; **Спр** – семяприемник; **Спи** – спикула; **СП** – семявыносящий проток; **Ф** – фазмиды; **Цц** – целоциты; **ЭЖБ** – большая эйжулярная железа; **ЭО** – экскреторное отверстие; **Я** – яйцо; **Яв** – яйцевод.

Освобождённую от слизи нематоду помещают в каплю воды или физиологический раствор на предметное стекло. Стекло переносят под МБС и рассматривают общий вид нематоды, отметив её морфологические особенности (форму тела, строение головного и хвостового отделов, наличие фазмид, спикул, папил и т.д.). Если под МБС находится половозрелая самка, то препаровальной иглой надрывают заднюю часть её тела в районе матки. Вышедшие в каплю воды яйца или сформированных личинок переносят на другое предметное стекло, покрывают покровным стеклом и рассматривают под МБС и малым увеличением микроскопа. Зарисовывают и измеряют части тела червей.

Из личинок и мелких нематод готовят глицерин-желатиновые препараты. Более крупных и плотных нематод фиксируют горячим спиртом или жидкостью Барбагалло. Зафиксированных червей с этикетками помещают в пробирки с фиксирующим раствором на хранение.

Зафиксированных червей переносят на часовое стекло (солонку) и заливают концентрированной молочной кислотой для просветления. Время просветления – от нескольких часов до нескольких суток в зависимости от размеров червя. После просветления червя помещают на предметное стекло в каплю молочной кислоты, под МБС и микроскопом изучают его внутренние морфологические структуры (строение ротового отверстия, пищеварительной и половой систем и др.). С помощью определителя устанавливают видовую принадлежность паразита. Зарисовывают наиболее характерные признаки вида червя. Оформляют этикетку с указанием вида червя, его локализацией, а также вида, места и даты отлова рыбы. Этикетку и червя помещают в пробирку с фиксатором для дальнейшего хранения или приготовления тотального препарата.

Пиявки делятся на два подкласса: древние (*Acanthobdellidea*), к которым относится один вид, паразитирующий только у лососевых рыб, и типичные пиявки (*Euhirudinea*), к которому принадлежат все остальные виды. Тело у них короткое, плоское или длинное уплощенное, реже цилиндрическое. У некоторых пиявок оно разделено на два отдела: передний, маленький и узкий; задний, большой, широкий и уплощенный. У ряда видов на теле имеются сегментно-расположенные боковые пузыри. На переднем и заднем концах имеется по присоске. Тело пиявок состоит из сомитов, число которых является систематическим признаком видов. Сомиты пиявок разделены бороздками, затрагивающими только покровы. Пиявки имеют мощную мускулатуру, составленную расположенными под покровами тремя слоями мышц. Нервная система состоит из головных ганглиев и брюшной нервной цепочки с разветвлениями. У многих видов пиявок на переднем конце тела имеются глаза, на заднем - глазные пятна. Кровеносная система подвержена редукции и имеется только у некоторых видов.

Пищеварительная система пиявок начинается ротовой полостью, расположенной в передней присоске. Затем следуют глотка, пищевод, желудок (часто со слепыми выростами), усваивающая и прямая кишка. Строение пе-

реднего отдела пищеварительного аппарата - важный систематический признак. У хоботных пиявок ротовая полость разрастается вокруг глотки, которая принимает вид подвижной мускулистой трубки, служащей для прокалывания покровов жертвы и высасывания крови. У бесхоботных пиявок в глотке образуются три валика, у некоторых видов снабженные зазубренными пластинками - челюстями. У бесхоботных пиявок, перешедших от сосания крови к заглатыванию различных мелких животных, челюсти не развиты или отсутствуют.

Органы выделения пиявок метанефридиального типа. Половая система гермафродитна. Мужские половые органы представлены семенными мешками и расположены в задней части тела. От семенных мешков отходят выводные протоки, сливающиеся в семяпроводы, которые образуют семенные резервуары, переходящие в мускулистые семяизвергательные каналы. Концевые отделы семяизвергательных каналов открываются в непарный атриум. Женские половые органы представлены двумя яйцевыми мешками и яйцеводами, которые, сливаясь, образуют короткое влагалище. После оплодотворения в женской половой системе образуются яйца, которые пиявки откладывают в коконы. Кокконы они прикрепляют к водным растениям, подводным предметам или откладывают в почву около берега.

Среди пиявок много видов, связанных с рыбами, однако далеко не все из них являются настоящими паразитами. Среди пиявок можно встретить разные степени своеобразного паразитизма, находящегося на грани хищничества. Многие пиявки — временные паразиты, связанные с рыбой только во время питания.

Для обнаружения пиявок живую рыбу обездвиживают, кладут в кювету. Тщательно (с помощью ручной лупы) осматривают плавники, поверхность тела, ротовую полость, жабры и жаберные крышки. Обнаруженных пиявок пинцетом переносят в солонки с водой. Метят их временными этикетками и отмечают в тетради естественную окраску червей. Фиксируют пиявок, используя один из фиксаторов — 1-2 %-ный формалин или 70°-ный спирт. Время окончательной фиксации 1-2 ч и более. На хранение червей переносят в 4 %-ный формалин или новый раствор 70°-ного спирта и помещают в темноту, чтобы материал не обесцветился на свету.

Пиявок изучают на фиксированном (реже живом) материале. Зафиксированного червя переносят на предметное стекло и накрывают сверху другим. Помещают паразита под МБС и, слегка придавливая, изучают его наружное строение. Отмечают форму и размер тела, присосок, устанавливают общее количество сомитов и количество колец в одном полном сомите, наличие щетинок, глазков, глазных пятен и т.д. Для выяснения некоторых признаков (например, наличие расположение глазков и др.) полезно просветлять целых пиявок или части их в глицерине (выдерживая их в глицерине в течение нескольких часов). С помощью определителя выясняют видовую принадлежность пиявки, проводя с линейкой и окуляр-

микрометром необходимые промеры. Делают соответствующую этикетку на препарат.

В некоторых случаях вскрывают пиявок, чтобы выяснить особенности строения пищеварительной, половой и других систем. С этой целью кладут червя в чашку Петри с застывшим на дне воском (желательно тёмного цвета) и помещают под МБС; острым скальпелем надрезают кожные покровы. Изолируют нужные части червя; при помощи препаровальных игл постепенно расщепляют ткани, осторожно изолируя различные органы для последующего изучения.

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КРУСТАЦЕОЗОВ, ГЛОХИДИОЗА И ПОЛИПОДИОЗА РЫБ

В классе ракообразных (*Crustacea*) типа членистоногих (*Arthropoda*) объединены свободноживущие и паразитирующие виды. Паразитические ракообразные произошли от свободноживущих. Паразитический образ жизни часто до неузнаваемости изменяет общий вид рачка, особенно форму его тела, которая значительно варьирует. С одной стороны, происходит упрощение его морфологии: сливаются сегменты тела, редуцируются конечности и изменяется их функция, меняется форма тела, с другой – дифференцируются органы прикрепления, появляются роговые выросты, присосковидные образования, редуцируются органы чувств, нервная система, однако, значительно развивается половая система.

Ракообразные имеют сегментированное тело. Число сегментов различно, они группируются в три отдела: голову, грудь и брюшко. Передние сегменты могут частично или полностью сливаться, образуя головогрудь. Каждый сегмент, кроме последнего, несет пару членистых конечностей, состоящих из основной части - протоподита и отходящих от него двух ветвей: внутренней (эндоподита) и наружной (экзоподита). Конечности головы представлены двумя парами антенн, жвалами (мандибулы) и двумя парами челюстей (максиллы). Тело рачков покрыто хитинизированной кутикулой, которая по мере роста периодически сбрасывается и заменяется новой (линька).

Пищеварительная система ракообразных развита хорошо и состоит из трех отделов: переднего, среднего и заднего. Органов дыхания у большинства низших ракообразных нет, газообмен осуществляется через покровы тела; у представителей высших ракообразных на брюшных ножках имеются кожные жабры. Кровеносная система у высших ракообразных незамкнутая, у низших отсутствует. Нервная система представлена надглоточным ганглием и брюшной нервной цепочкой с парными ганглиями в каждом сегменте. Органы чувств включают в себя осязательные волоски, расположенные на антеннах с одним или двумя глазами. Выделительная система состоит из максиллярных желез у низших ракообразных и антениальных, открывающихся в основании антенн, у высших. Ракообразные раздельнополы, с выраженным половым диморфизмом. Семенники и яичники парные. Мужские

половые продукты выделяются в виде сперматофоров (пачек склеенных сперматозоидов, заключенных в оболочку), которые самцы приклеивают к половым отверстиям самок.

У рыб паразитируют ракообразные, относящиеся к трем отрядам: *Copepoda* (веслоногие), *Branchiura* (жаброхвостые) и *Isopoda* (равноногие). Оплодотворенные яйца *Copepoda* вынашивают в яйцевых мешках, отходящих от половых отверстий. Жаброхвостые приклеивают яйца к подводным предметам, равноногие - к конечностям самок.

Развитие происходит с метаморфозом. Из яйца вылупляется свободноплавающая личинка, называемая у веслоногих и жаброхвостых - науплиусом, а у равноногих - зоэа. У науплиуса имеется один, а у зоэа - два фасеточных глаза. Рост личинок происходит путем многократных линек, в результате которых формируются половозрелые самки и самцы. После оплодотворения, которое происходит в воде, самка копепод отыскивает рыбу и переходит к паразитическому образу жизни, а самец вскоре погибает. Среди жаброхвостых и равноногих паразитируют и самки, и самцы.

К отряду *Copepoda* относятся многие семейства свободноживущих рачков и многочисленные паразиты рыб, принадлежащие к нескольким семействам: *Ergasilidae*, *Lernaeidae*, *Lernaeopodidae*, *Caligidae* и др. К отряду *Branchiura* относится сем. *Argulidae*, к отряду *Isopoda* - сем. *Cymothoidae*.

Для обнаружения ракообразных живую рыбу обездвигивают, кладут в кювету. Внимательно осматривают поверхность тела, а также жаберные крышки. Далее отрезают плавники, помещают на стекло, смочив водой. Затем делают соскоб с поверхности тела, ротовой полости, плавников и, смочив водой, рассматривают под биноклем.

Всех рачков, обнаруженных на поверхности тела, осторожно снимают препаровальными иглами, надрезая при необходимости ткани хозяина в месте прикрепления паразита, с тем, чтобы выделить неповрежденным головной конец паразита, который играет важную роль в определении вида. Снятых паразитов помещают сначала в солонку (или часовое стекло) с чистой дистиллированной водой и с помощью пинцета и тонких препаровальных игл освобождают от остатков тканей, слизи.

Далее аккуратно вырезают жаберные дуги, помещают на стекло для вскрытия, смачивают водой из пипетки. Вначале осматривают их невооруженным глазом, а затем под лупой или биноклем, осторожно раздвигая жаберные лепестки иглами. Обнаруженных паразитов аккуратно снимают препаровальными иглами или пинцетом и переносят в чистую воду.

Выделенного рачка помещают на предметное стекло в каплю чистой воды и рассматривают под лупой или биноклем, а отдельные детали — под малым увеличением микроскопа, предварительно прикрыв рачка покровным стеклом, но, не придавливая его, с тем, чтобы не повредить хрупкую хитинизированную кутикулу, покрывающую тело рачка. Внимательно рассматривают форму тела, строение прикрепительного аппарата, наличие и

количество сегментов, парных яйцевых мешков. Зарисовывают основные систематические признаки.

Не всегда удаётся определить вид паразита на живом материале. Часто это удобнее сделать на фиксированном. Рачков фиксируют, помещая во флакон с 70°-ным спиртом или 4 %-ным раствором формалина, не придавливая их, а просто опуская туда. Чаще всего для определения вида паразита его вынимают из флакона с фиксатором, помещают на предметное стекло в спирт с глицерином или каплю молочной кислоты или спирта (для просветления) и рассматривают под МБС. С помощью определителя выясняют видовую принадлежность рачка. После определения его снова кладут в спирт, где хранят неопределённое время. Во флакон вкладывают этикетку с указанием вида паразита, хозяина, места и времени обнаружения.

Однако иногда возникает необходимость приготовить постоянный препарат для более тщательного изучения мелких деталей паразита или его личинок. Препарат из целого паразита готовят следующим образом. Фиксированных в 4 %-ном растворе формалина рачков отмывают, проводят по спиртам возрастающей концентрации, иногда просветляют в спирте с диметилфталатом или спирте с глицерином, переносят на предметное стекло в заранее нанесённую на него каплю глицерин-желатина или бальзама и аккуратно, не слишком придавливая (чтобы не повредить кутикулу), покрывают покровным стеклом. Если рачок крупный и толстый, то по углам покровного стекла делают маленькие ножки из воска, которые предохранят паразита от раздавливания. При этом количество глицерин-желатина следует увеличить, чтобы между покровным и предметным стеклом не образовывалось пустот и пузырьков воздуха.

При определении вида рачка помещают в каплю воды на предметное стекло и под МБС препаровальными иглами отделяют головные конечности: антенны I и II, жвалы (мандибулы) и челюсти (максиллы), грудные ножки (максиллипеды), которые видоизменяются в челюстные и иногда брюшные (плавательные) ножки, которые часто бывают рудиментированы. Отпрепарированные конечности помещают в каплю жидкости Калецкой или спирт с глицерином и осторожно накрывают покровным стеклом, которое позднее обмазывают замазкой. На готовом препарате изучают строение конечностей, их размеры, вооружение (шипики, коготки и т.п.), соотношение члеников, форму ротового аппарата. На конец предметного стекла наклеивают этикетку такого же содержания, как на флакон, в котором хранятся фиксированные рачки.

Из типа моллюсков (Mollusca) на жабрах и плавниках рыб часто встречаются личинки (глохидии) двух классов: брюхоногие (*Gastropoda*) и двустворчатые (*Bivalvia*). На рыбах России паразитируют глохидии надсемейства *Unionidae* родов *Anodonta* (беззубки), *Unio* (перловицы), *Cristaria* (гребенчатки), *Margaritana* (жемчужницы) и др.

Тело двустворчатых моллюсков сплюснутое, состоит из туловища и ноги. Оно покрыто мантией и заключено в раковину, состоящую из двух

створок, соединённых между собой на спинной стороне с помощью зубовидных отростков (зубов) и мускула замыкателя. Форма тонкостенной раковины и ее размеры, а также форма зубов имеют значение при определении вида. На переднем конце тела расположен рот, на заднем – порошица, между ними находится нога с биссусовой железой, выделяющей тягучий нитевидный секрет, с помощью которого моллюск прикрепляется к подводным предметам. Жабры находятся в мантийной полости. Пищеварительная система состоит из рта, пищевода, желудка, кишечника. Половая система – в виде парных дольчатых образований. Большинство видов моллюсков раздельнополые. Оплодотворение наружное.

Глохидии развиваются на жабрах материнского организма, и после завершения развития выбрасываются материнской особью на проплывающую рыбу. Для прикрепления к рыбе у глохидиев существует специальная биссусная железа, из которой выделяются клейкие биссусные нити. С помощью биссусной нити глохидии приклеиваются к жабрам или плавникам рыб и своими створками захватывают ткань хозяина (рис. 27). Продолжительность развития на теле рыбы не превышает 1-2 мес. В этот период происходит дальнейшее развитие и метаморфоз моллюска. После такого паразитирования на рыбе глохидии отваливаются и начинают вести жизнь, обычную для моллюсков.

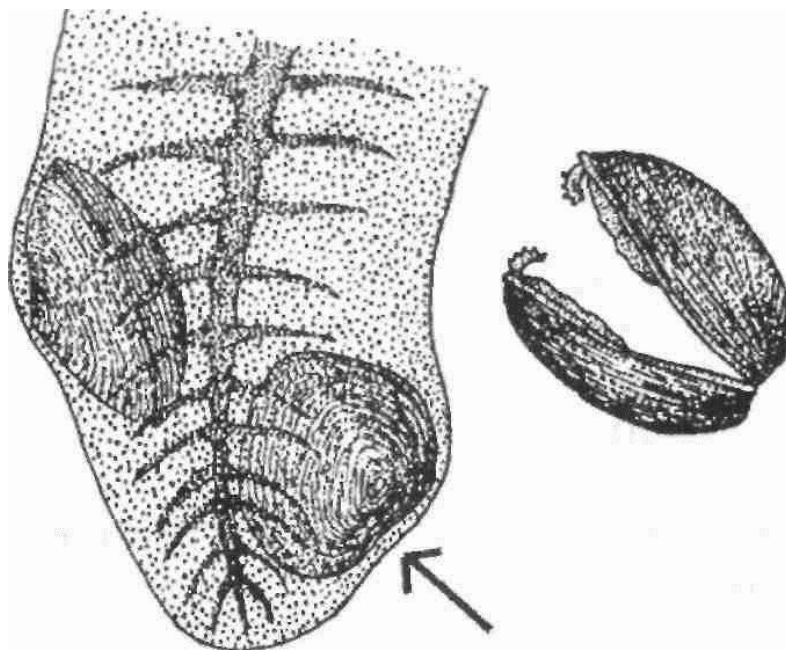


Рисунок 27. Жабры рыбы, пораженные глохидиями моллюсков.

Для обнаружения глохидий моллюсков с поверхности тела и плавников исследуемой рыбы делают соскоб и внимательно рассматривают рассматривают под МБС. Далее выделяют жабры и осматривают соскоб жаберной ткани. Обнаруженных глохидиев осторожно (створки их очень хрупкие) с помощью препаровальных игл и кисточки снимают и помещают на пред-

метное стекло в каплю чистой воды, очищают от слизи и тканей. С помощью окуляр-микрометра измеряют длину и ширину створок, зарисовывают их форму и по определителю определяют вид.

Если невозможно определить вид сразу на живом материале, то выделенных глехидиев фиксируют в пробирке с 4 %-ным раствором формалина и определение проводят позднее. Коллекцию глехидиев хранят в пробирках с 4 %-ным раствором формалина, вкладывая туда этикетку с указанием вида хозяина, вида глехидиев, места вылова, даты. Постоянные окрашенные препараты не изготавливают, а неокрашенные заключают в глицерин-желатин.

Из типа кишечнополостных (*Coelenterata*) у рыб паразитирует всего один вид – полип *Polypodium hydriforme*, локализующийся только в икринках осетровых рыб. В большинстве случаев кишечнополостные - свободноживущие животные, часто колониальные, обитающие преимущественно в морях. Кишечнополостные - многоклеточные, двуслойные животные. В онтогенезе у них формируются два зародышевых листка — экто- и эндодерма, отчетливо выраженные и у взрослых животных. В наиболее простом случае тело кишечнополостных представляет собой мешок. В полости мешка, выстланного эндодермой, происходит переваривание пищи. Отверстие мешка служит ртом, через него же выбрасываются непереваренные остатки пищи. Характерным признаком кишечнополостных является наличие в их покровах стрекательных клеток, служащих для прикрепления к субстрату, ловли добычи, защиты от врагов.

Развитие *P. hydriforme* происходит, как в икре осетровых, так и в воде (рис. 28). Икра осетровых заражается паразитом в тот период, когда в ней начинается образование желтка (II-III стадия зрелости). В таких икринках находится самая ранняя из известных стадий развития - планулообразная двуслойная личинка. С ростом икринки и накоплением в ней желтка планула разрастается в длину и превращается в своеобразную трубку - столон, на котором образуются вздутия - почки, представляющие собой зачатки будущих самостоятельных особей. Число почек бывает различным. В мелкой икре севрюги их насчитывается 40-60, в более крупной икре осетра на столоне бывает 70-90 почек. В каждой почке столона закладывается по 12 щупальцев. К этому времени икра находится на IV стадии зрелости. Столон в этот период вывернут своим внутренним слоем (эндодермой) наружу и обращен к желтку, за счет которого происходит питание паразита.

Перед нерестом при переходе яичников рыбы в V стадию зрелости столон с почками выворачивается так, что слои клеток принимают положение, характерное для кишечнополостных. Эндодерма оказывается обращенной во внутреннюю полость. При этом часть желтка икринки попадает в полость полипа. Во время нереста зараженные икринки выметываются вместе со здоровой икрой. Из них через разрыв оболочек столон выходит наружу и распадается на составляющие его почки, каждая из которых становится свободноживущим полипом. Свободноживущие полипы в течение первых 4-5 дней питаются за счет желтка, попавшего в их полость во время выворачи-

вания столона. Затем у полипа образуется рот, и он переходит к питанию олигохетами, коловратками и другими мелкими водными животными, захватывая пищу своими щупальцами со стрекательными клетками.

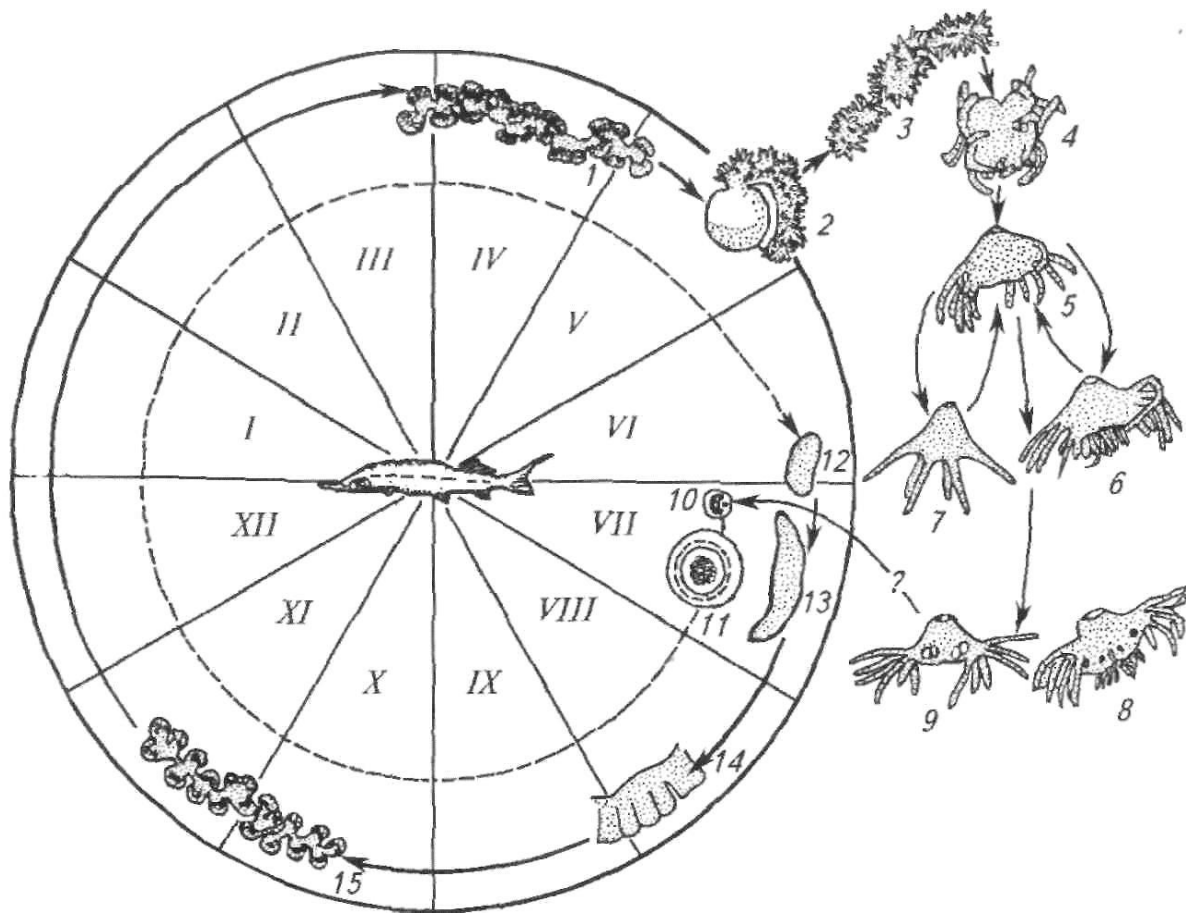


Рисунок 28. Цикл развития *Polypodium hydriforme*

(внутри круга помещены паразитические стадии развития - внутри ооцита; вне круга - свободноживущие; римскими цифрами обозначены месяцы):

1, 15 - стolon с почками, щупальцами внутри почек; 2 - стolon с наружными щупальцами, выходящий в воду во время нереста; 3 - такой же стolon в воде; 4 - фрагмент столонa в воде; 5 - одиночная медуза с щупальцами; 6 - 24-щупальцевая медуза; 7 - 6-щупальцевая медуза; 8 - 24-щупальцевая медуза с незрелыми половыми железами первого типа; 9 - 12-щупальцевая медуза со зрелыми половыми железами второго типа; 10 - двухъядерная клетка; 11 - морула; 12 - планула; 13 - почкующаяся планула; 14 - стolon с почками без щупальцев.

Знак «?» означает, что способ заражения ооцитов неясен.

Для обнаружения *P. hydriforme* вскрывают брюшную полость самки осетровой рыбы и осторожно выделяют яичники (ястыки). Обычно уже через оболочку яичника просвечивают крупные неоднородно окрашенные, резко отличающиеся от здоровых, поражённые полипом икринки. Осторожно разрезают оболочку яичника, отделяют поражённых икринок и помещают их на предметное стекло (или часовое стекло) в каплю воды.

Далее икринку осторожно разрывают. Из разорванной икринки в воду

попадает прозрачное, видимое невооружённым глазом тело паразита. Рассматривают под МБС и зарисовывают стадию развития паразита. Поражённую икринку или выделенного полипа фиксируют в 4%-ом растворе формалина. Тотальных препаратов не готовят. При постановке диагноза следует дифференцировать наличие в икринке полипа от заражения её микроспоридиями рода *Socsoneta*, которые также паразитируют в икре осетровых рыб. При поражении микроспоридией икринка заметно большего размера, чем здоровая, грязновато-белого цвета (не полосатая), причём при раздавливании такой икринки из неё выделяется только мутная жидкость.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бауер О.Н., Мусселиус В.А., Стрелков Ю.А. Болезни прудовых рыб. М.: «Лёгкая и пищевая промышленность». 1981. 320с.
2. Быховская-Павловская И.Е. Паразитологическое исследование рыб. М.-Л.: Изд. АН СССР. 1952. 63с.
3. Гусев А.В. Методика сбора материалов по моногенейм. М. 1978. 34с.
4. Гусев А.В. Методика сбора и обработка материалов по моногенейм, паразитирующим у рыб. 1983. Л.: «Наука». 48с.
5. Евсеева Н.В. Охрана здоровья рыб в аквакультуре: Методическое руководство по изучению паразитов пресноводных рыб для спецкурсов по паразитологии, ихтиопатологии и болезням рыб. Петрозаводск: Изд. ПетроГУ. 2008. 44с.
6. Крылов О.Н. Методические указания по гематологическому обследованию рыб в водной токсикологии. Л. 1974. 39 с.
7. Мусселиус В.А., Ванятинский В.Ф., Вихман А.А. Лабораторный практикум по болезням рыб. М.: «Лёгкая и пищевая промышленность». 1983. 296с.
8. Петрушевский Г.К., Петрушевская М.Г. Достоверность количественных показателей при изучении паразитофауны рыб // Паразит. сб. ЗИН АН СССР – 1960 - №19 – с. 333-343.
9. Роскин Г.И., Левинсон Л.Б. Микроскопическая техника. М.: «Советская наука». 1957. 467с.
10. Хотеновский И.А. Методика изготовления препаратов из диплозоонов // Зоол. журн. - 1974. - т. 53, вып. 7 – с.1079-1080.
11. Юхименко С.С. Методика обследования носовых полостей молоди рыб // Паразитология - 1972 - т. VI, вып. 1 – с. 83-84.
12. Ergens R. The suitability of ammonium-picrate-glycerin in preparing slides of lower Monogenoidea // Folia Parasitol. – 1969 - vol. 16, № 4 – p.320.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

Устройство и правила работы со световым микроскопом.

Световой микроскоп увеличивает детали биологических объектов в несколько сотен тысяч раз.

Микроскоп биологический состоит из двух частей:

1. Оптическая, с помощью которой настраивают освещение объекта и получают увеличение изображения рассматриваемого объекта. К оптической части относятся: окуляры, объективы, конденсор, зеркало или осветитель.

2. Механическая служит оправой для оптики. Она представлена рядом приспособлений для перемещения изучаемого объекта в поле зрения и наведения фокуса изображения. К механической части относятся: основание штатива или «башмак», колонка штатива или тубусодержатель, наклонный тубус, револьвер, винт для грубой настройки фокуса (макрвинт) и точной настройки (микровинт), конденсор, подвижный предметный столик.

Прежде чем начать работу со световым микроскопом, нужно установить его на рабочем месте так, чтобы он был обращен колонкой к наблюдателю, а зеркалом к источнику света. Затем установить освещение при слабом увеличении объектива, повернув вогнутое зеркало так, чтобы поле зрения микроскопа было освещено равномерно и достаточно ярко (но чтобы свет не раздражал глаза). После этого положить препарат на предметный столик микроскопа покровным стеклом кверху, чтобы объектив приходился против отверстия столика. Микроскопирование препарата надо начинать при слабом увеличении. Глядя сбоку на микроскоп, опустить его тубус, вращая от себя макровинт до тех пор, пока фронтальная линза объектива не будет на расстоянии 0,5 см от покровного стекла. Затем, смотря в окуляр левым глазом и держа при этом правый глаз открытым, медленно вращать макровинт на себя до получения изображения препарата. Для более четкой наводки пользуются микровинтом, вращая его не более чем на пол-оборота в обоих направлениях. Изучая препарат при слабом увеличении микроскопа, нельзя ограничиваться рассмотрением одного поля зрения - необходимо исследовать препарат по всей его поверхности. Заключенный под покровное стекло гистологический срез может лежать не совсем горизонтально, и толщина его частей может быть разной, при его перемещении теряется четкость изображения. Передвигая препарат, следует держать свободную руку на микровинте и слегка вращать его. При этом нужно помнить, что микроскоп дает обратное изображение, т.е. при перемещении препарата сверху вниз изображение будет двигаться снизу вверх. После того, как на препарате найдено хорошее место для дальнейшего изучения, необходимо поставить его в центр поля зрения и закрепить препарат зажимами. После этого сменить слабое увеличение на сильное: не поднимая тубуса микроскопа сменить объектив слабого увеличения на объектив сильного увеличения пово-

ротом револьвера. Наиболее четкая наводка на фокус достигается вращением микровинта так же, как и при слабом увеличении. После окончания микроскопирования нельзя сразу снимать препарат с предметного столика, нужно предварительно поднять тубус несколькими оборотами макровинта, иначе можно повредить препаратом фронтальную линзу. Привести микроскоп в исходное состояние, поставить над круглым отверстием в столике объектив слабого увеличения на расстоянии 2-3 см от него. Переносить микроскоп следует держать правой рукой колонку штатива, а левой подставить под его основание.

С помощью световых микроскопов можно изучать биологические объекты при различном увеличении. Увеличение до 400 раз дают "сухие" объективы, т.е. при работе с которыми между препаратом и объективом имеется небольшое пространство (воздух). Большое увеличение достигается с помощью короткофокусных объективов, когда между объективом и исследуемым объектом помещают каплю жидкости (вода, масло). Эта система называется иммерсионной. В зависимости от применяемой жидкости различают масляную или водяную иммерсию. Иммерсионная система позволяет изучать препараты с увеличением в 1200-1500 раз.

Приложение 2

Необходимое оборудование и реактивы

1. Оптика

Микроскоп бинокулярный стереоскопический МБС-1, МБС-9, МБС-10, МС-2 с увеличением 8 x 7

Микроскоп биологический с бинокулярной насадкой, с окуляром 10, 15, и объективами 20, 40 и 90.

Окуляр-микромметр

Объектив-микромметр

Рисовальный аппарат типа РА-1, РА-4, РА-7

Фотоаппарат

Осветитель или настольная лампа

2. Инструменты

Ножницы разного размера прямые и изогнутые

Скальпели разного размера

Пинцеты разного размера хирургические и анатомические

Препаравальные иглы разной толщины

Пипетки медицинские и с оттянутыми концами

Линейка и штангенциркуль

Весы

3. Стёкла и посуда

Стёкла размером 9 x 12 см – 10 шт.

Предметные стёкла (7,5 x 2,5 см) – 10-20 шт.

Обезжиренные предметные стёкла для мазков крови
Шлифованное стекло
Покровные стёкла (18 x 18 мм или 24 x 24 мм)
Солонки или часовые стёкла
Чашки Петри
Пробирки, высотой 40 или 60 мм
Крупные пробирки
Материальные банки с притёртой пробкой
Бюксы - 4 шт. для фиксации простейших в растворе Шаудина
Стаканчик с притёртой пробкой для хранения простейших в спирте
Стаканчик или коробочка для хранения сухих мазков с триходинами
Мерные цилиндры
Воронки
Кристаллизаторы
Спиртовка
Эмалированные кюветы для вскрытия рыб
Ёмкости для воды и перевозки рыбы
Компрессоры для аэрации воды

4. Вспомогательные материалы

Тетрадь или блокнот
Карандаши мягкие и твёрдые
Тушь, ручки или водостойкие маркёры
Бумага для упаковки препаратов
Калька для этикеток, хранящихся в спирту
Кружки, колечки из бумаги для этикеток
Бумага фильтровальная
Вата гигроскопическая для уплотнения пробирок в материальной банке

Полотенца для рук, тряпки, марля
Мыло или стиральный порошок
Лейкопластырь или клейкая лента для упаковки препаратов
Халат
Клеёнка
Рыболовные снасти (крючки, блесна, лески)

5. Реактивы

Спирт 96°, 80°, 70°
Формальдегид 4%
Дистиллированная вода
Метиловый спирт или смесь 96° спирта и эфира
Лимоннокислый натрий
Жидкость Шаудина – 20 мл
Спиртовой раствор йода - 20 мл
Жидкость Барбагалло – 50 мл
Реактив Ван-Клива – 100 мл

Хлористый натрий (поваренная соль) - 50-100 мл
Уксуснокислый кармин – 100 мл
Подкисленный спирт - 100 мл
Азотнокислое серебро 1% раствор, хранящийся в тёмном флаконе
Глицерин-желатин
Пикрат аммония
Иммерсионное масло или вазелиновое масло
Жидкость Буэна
Раствор Романовского-Гимза
Сулема – насыщенный раствор
Квасцовый кармин
Гематоксилин Гейденгайна, Майера, Делафильда
Ксилол или гвоздичное масло
Бальзам канадский
Канифольная замазка
Парафин

Приложение 3

Рецепты фиксаторов и красителей

Азур-эозин. Азура 110,8 г, эозина 3 г, химически чистого глицерина 250 мл и метилового спирта 250 мл.

Вода. Для разведения реактивов используется дистиллированная вода.

Гематоксилин Майера. 1 г гематоксилина растворяют в 1 л дистиллированной воды с последующим добавлением 0,2 г йодноватокислого натрия и 50 г калийных квасцов.

Глицерин-желатиновая смесь. 7 г пищевого желатина размачивают в течение 2-3 часов в 42 мл дистиллированной воды, добавляют 50 г чистого глицерина с 0,5 г карболовой кислоты. Полученную смесь нагревают на водяной бане при помешивании до получения однородной жидкости. Полученную жидкость фильтруют в термостате через фильтровальную бумагу. Фильтрованный глицерин-желатин разливают тёплым по небольшим пробиркам, держа их в наклонной плоскости. Пробирку с глицерин-желатином нужно всегда держать закрытой, чтобы туда не попала пыль, и открывать перед употреблением. Не использовать корковые пробки.

Железный гематоксилин. 0,5 г кристаллического гематоксилина растворяют в 10 мл 96° спирта, разбавляют 90 мл дистиллированной воды и выливают в колбу. Колбу затыкают неплотной ватной пробкой и ставят «созревать» на 3-4 недели. По истечении этого времени краситель готов к употреблению. Перед окраской раствор разбавляют дистиллированной водой в 2 раза. Раствор должен быть тёмно красноватого цвета. Если раствор чёрный, то краска не годится к употреблению.

Жидкость Барбагалло. 7 г поваренной соли растворить в 1 л дистиллированной воды с последующим добавлением 3 мл формалина.

Жидкость Буэна. Готовят раствор пикриновой кислоты – 15 частей и формалина – 5 частей. Перед употреблением добавляют 1 часть ледяной уксусной кислоты.

Жидкость Карнуа. Абсолютного спирта – 6 частей, хлороформа – 3 части, уксусной кислоты – 1 часть. Продолжительность фиксации от 2 до 3-4 часов.

Жидкость Шаудина. Для приготовления жидкости Шаудина необходимо иметь насыщенный раствор сулемы и 96° спирта или ещё лучше абсолютный спирт. Насыщенный раствор сулемы готовят так: 35 г порошка сулемы растворяют в 500 мл горячей воды. Дают раствору остыть. На дне сосуда должны выпасть кристаллы сулемы. Затем берут 2 части насыщенного раствора сулемы и 1 часть спирта. Хранить жидкость Шаудина надо в посуде с плотной пробкой, в темноте. Обращаться с этим фиксатором нужно очень осторожно, поскольку сулема – сильный яд. Необходимо следить за тем, чтобы фиксатор не попадал на металлические, особенно алюминиевые части приборов и оборудования, так как при соприкосновении с сулемой они могут прийти в негодность.

Канифольная замазка. Берут 7 г канифоли и 2 г воска. Составные части оплавляют в фарфоровой чашечке. Перед употреблением канифольную замазку необходимо разогреть. Смесь наносят по краю покровного стекла спичкой. Поскольку замазка быстро застывает, обведённый препарат следует слегка подогреть для более равномерного распределения замазки вокруг стекла.

Квасцовый кармин. 10 мг алюмокалиевых квасцов растворяют в 200 мл дистиллированной воды, прибавляют 1 г мелко растёртого кармина и кипятят в течение 10-15 минут. Затем краситель фильтруют и добавляют кристаллик тимола, чтобы предохранить его от развития плесени.

Лактофенольный раствор. Состоит из 2 частей глицерина, 1 части молочной кислоты, 1 части карболовой кислоты и 1 части дистиллированной воды.

Метиленовая синь. 1 г метиленовой сини и 2,5 г буры растворяют в 100 мл горячей воды.

Пикрат аммония. Насыщенный раствор пикриновокислого аммония (1 г порошка на 100 мл дистиллированной воды) смешивают с глицерином в отношении 1:1. При работе необходимо иметь в виду, что порошкообразный пикриновокислый аммоний при нагревании свыше 40° С взрывается.

Раствор Романовского. Готовят два раствора - 1 г азура II растворяют в 1 л прокипячённой дистиллированной воды и 1 г эозина в 1 л воды. Растворы хранят отдельно. Перед употреблением к 1 мл нейтральной дистиллированной воды прибавляют по 2 капли каждого раствора.

Спирты. Для фиксации и хранения биологических объектов используется спирты различной крепости. Их изготавливают из 96° спирта. Для получения 70° спирта, нужно к 100 мл исходного спирта прибавить 40 мл дистиллированной воды.

100° спирт (абсолютный). Для приготовления абсолютного спирта в 96° спирт добавляют обезвоженный (прокалённый) медного купороса. Обезвоженный медный купорос можно приготовить из кристаллического прокаливанием последнего в фарфоровой чашке. Прокаливание ведут при непрерывном помешивании. Прокалённый медный купорос – порошок белого цвета. Пожелтение купороса указывает на то, что его перекалили и такой реактив использовать нельзя, голубоватый цвет указывает на неполное обезвоживание. Готовый, безводный купорос всыпают в бутылку с притёртой пробкой примерно на ¼ объёма, доливают до верха 96° спиртом и взбалтывают. Через 2-3 дня абсолютный спирт готов к употреблению.

Уксуснокислый кармин. В 100 мл 40 %-ной уксусной кислоты растворить (на водяной бане) 3 - 4 г, мелко растёртого в порошок кармина. Раствор охлаждают и фильтруют.

Физиологический раствор. Для хладнокровных животных используется 0,65 г поваренной соли на 100 г дистиллированной воды. Для теплокровных – 0,9 г.

Фиксатор Ван-Клива. 85 частей 85 %-го спирта смешать с 10 частями формалина и 5 частями ледяной уксусной кислоты.

Формалин. 40 %-ный продажный формальдегид. Для получения 4 %-го формальдегида к 9 частям воды добавляют 1 часть формалина. Для получения 10 %-го формальдегида к 1 части формалина добавляют 3 части воды.

Приложение 4

ФОРМА ПРОТОКОЛА полного паразитологического вскрытия рыб

Дата исследования _____
Водоём и место вылова рыбы _____
Название рыбы (латинское и местное) _____
Номер рыбы (порядковый) _____
Возраст рыбы, вес _____
Размер: длина, высота, охват _____
Пол рыбы _____

Органы	Количество паразитов и предварительное определение	Окончательное определение (до вида)	Примечание
1. кровь 2. чешуя 3. кожа 4. плавники 5. обонятельные ямки 6. глаза 7. ротовая полость 8. жабры 9. полость тела 10. сердце 11. мочевого пузыря 12. брыжейка 13. жировая ткань 14. селезёнка 15. половые железы 16. печень 17. желчный пузырь 18. поджелудочная железа 19. желудочно-кишечный тракт (пищевод, желудок, пилорические отростка, кишечник передний, средний и задний отделы) 20. плавательный пузырь 21. почки 22. мочеточники 23. головной мозг	В хрусталике правого глаза две личинки диплостомид	<i>Diplostomum spathaceum</i>	

24. спинной мозг 25. мускулатура 26. хрящи			
---	--	--	--

Заключение по результатам вскрытия:

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
Основы общей паразитологии	4
Циклы развития паразитов	7
Регуляция и устойчивость систем паразит-хозяин	11
Роль паразитов в водных экосистемах	14
Метод полного паразитологического вскрытия рыб	15
1. Порядок исследования	17
2. Исследование кожного покрова рыб, плавников, носовой и ротовой полостей	21
3. Исследование жабр	22
4. Исследование брюшной полости и внутренних органов	23
5. Исследование головного и спинного мозга	28
6. Исследование хрящей	29
7. Исследование мышц	29
8. Исследование глаз	29
9. Методы фиксации паразитов	30
10. Методы окраски паразитов	34
Правила отбора больных рыб, патологического материала, крови, кормов и пересылки для лабораторного исследования	37
Методы изучения возбудителей протозойных болезней рыб	40
Методы изучения возбудителей гельминтозов рыб	51
Методы изучения возбудителей крустацеозов, глохидиоза и полиподиоза рыб	69
Список литературы	75
Приложения	76

*Подписано в печать 07.06.16г. Зак. № 26
Объем 5,5 п.л. Тираж 100 экз.
Издательство ФГБОУ ВО «СПбГАВМ», ул. Черниговская, д. 5*