

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

**А.В. Симакова, И.Б. Бабкина, Т.А. Бочарова**

**ПАЗИТОЛОГИЧЕСКОЕ  
ИССЛЕДОВАНИЕ РЫБ**

**Учебно-методическое пособие**

Томск

Издательский Дом Томского государственного университета

2018

УДК 576.89 (075.8)

ББК 28.083я73

С37

**Симакова А.В., Бабкина И.Б., Бочарова Т.А.**

**С37** Паразитологическое исследование рыб : учебно-методическое пособие. – Томск : Издательский Дом Томского государственного университета, 2018. – 60 с.

В работе рассматривается современная система классификации рыб, детали внешнего и внутреннего строения, способы вскрытия рыбы, сбора, фиксации, окраски паразитов и приготовление препаратов. Отдельно описаны методы работы с личиночными стадиями *Opisthorchis felineus*. В приложениях приводится перечисление необходимых для паразитологических исследований оборудования и реактивов, а также способы приготовления необходимых фиксаторов и красителей.

Для студентов, магистрантов, аспирантов университетов и вузов.

УДК 576.89 (075.8)

ББК 28.083я73

***Рецензенты:***

*В.Н. Романенко*, доктор биологических наук, профессор;

*В.И. Романов*, доктор биологических наук, профессор

© А.В. Симакова, И.Б. Бабкина, Т.А. Бочарова, 2018

© Томский государственный университет, 2018

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	4
<b>1. СИСТЕМАТИКА И МОРФОЛОГИЯ РЫБ</b> .....	6
1.1 Систематика рыб .....	6
1.2 Биологический анализ .....	22
<b>2. ПОЛНОЕ ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОЕ ВСКРЫТИЕ РЫБ</b> .....	26
2.1. Общие положения .....	26
2.2. Порядок паразитологического исследования .....	27
2.3. Исследование кожного покрова, плавников, носовой и ротовой полостей .....	28
2.4. Исследование жабр .....	29
2.5. Исследование крови .....	29
2.6. Исследование брюшной полости и внутренних органов.....	29
2.7. Исследование головного и спинного мозга .....	31
2.8. Исследование хрящей.....	32
2.9. Исследование мышц .....	32
2.10. Исследование глаз.....	32
2.11. Обследование головы для выявления возбудителя вертежа .....	33
<b>3. МЕТОДЫ РАБОТЫ С ПАРАЗИТАМИ</b> .....	34
3.1. Методы отбора паразитов .....	34
3.2. Методы фиксации паразитов .....	35
3.3. Методы окрашивания паразитов .....	40
<b>4. МЕТОДЫ РАБОТЫ С ЛИЧИНОЧНЫМИ СТАДИЯМИ КОШАЧЬЕЙ ДВУУСТКИ</b> .....	44
4.1. Методы исследования первого промежуточного хозяина – битинийд на зараженность кошачьей двуусткой .....	44
4.2. Методы исследования второго промежуточного хозяина – карповых рыб на зараженность метацеркариями .....	47
<b>Приложение 1. Необходимое оборудование и реактивы</b> .....	52
<b>Приложение 2. Рецепты фиксаторов и красителей</b> .....	55
<b>Литература</b> .....	58

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время наблюдается резкая интенсификация прудового рыбоводства, вопросам аквакультуры уделяется большое внимание. На фоне стремительно развивающегося в нашей стране рыбоводства, особенно остро стоит вопрос о распространении инфекционных и инвазионных заболеваний при уплотнениях посадки рыбы, совместном выращивании рыб различных видов и введения новых объектов рыбоводства. В связи с этим важная роль принадлежит изучению паразитов рыб в рамках большого практикума по иктиопаразитологии.

Заразные болезни рыб подразделяются на: инфекционные, вызываемые вирусами, бактериями, грибами и пр. и инвазионные, вызываемые простейшими, гельминтами, ракообразными и пр.

Пути проникновения болезнетворного агента в организм называют входными «воротами инфекции или инвазии». Большинство патогенов имеют свои характерные входные ворота: через пищеварительный тракт (многие бактерии, кокцидии, гельминты), непосредственно в кровяное русло (трипаномы, криптобии и др.), кожные покровы (бактерии, инфузории, моногенеи, ракообразные и др.), мочеполовые пути (бактерии, некоторые гельминты).

Локализация паразитов очень разнообразна. Даже для таких высокоспециализированных тканей, как костная и нервная, известны паразиты, относящиеся к различным группам животных. По характеру паразитирования различают две большие группы паразитов: эктопаразитов, обитающих на поверхности рыб и эндопаразитов, живущих в различных внутренних органах и тканях хозяина. Существуют паразиты, не обладающие избирательностью по отношению к своим хозяевам – таких паразитов называют широкоспецифичные. Другие паразиты способны обитать только на одном или на небольшом числе видов рыб. Они избирательны по отношению к хозяину или узкоспецифичные. Специфичность паразитов в значительной мере определяет круг мероприятий, направленных на предотвращение или ликвидацию болезней.

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.

В настоящем пособии отдельно имеется информация о методах ра-

боты с личиночными стадиями *Opistorchis felineus*, что является неотъемлемой частью мониторинговых исследований тяжелого природно-очагового заболевания человека и животных – описторхоза. Проблема зараженности кошачьей двуусткой особенно актуальна в Томской области, находящейся в центре самого крупного очага описторхоза на нашей планете.

Данное методическое пособие позволит идентифицировать виды, освоить методы биологического анализа рыб, сбора и фиксации паразитов, расширит знания по микротехнике и приготовлению постоянных и временных препаратов, методам их окрашивания, привьет навыки научно-исследовательской работы. Полезным методическое пособие может оказаться и для начинающих научных работников, объектом изучения которых является рыба.

# 1. СИСТЕМАТИКА И МОРФОЛОГИЯ РЫБ

## 1.1 Систематика рыб

В качестве системы рыб была принята система, предложенная Дж. Нельсоном (2006, 2009), переработанная для ихтиофауны России В.И. Романовым (2015). В настоящее время вышло 5 издание *Fishes of the World* (2016), где есть существенные изменения в системе некоторых таксонов. Ниже приводится современная система классификации рыб Средней Оби.

Тип Chordata – хордовые

Класс PETROMYZONTIDA – миноги

Отряд PETROMYZONTIFORMES – миногообразные

Семейство PETROMYZONTIDAE – миноговые;

### **northern lampreys**



В водах России встречается 10 видов, в бассейне р. Обь 2 вида.

По бокам головы 7 пар жаберных отверстий, не прикрытых жаберными крышками. Тело змеевидное, на разрезе круглое. Парных плавников нет.

*Lethenteron camtschaticum* (Tilesius, 1811) [= *L. japonicum* Martens, 1868] – **тихоокеанская (японская, ледовитоморская) минога**. Крупная (до 50 см и более), проходная минога. Тело змееобразное. Хвостовой плавник ланцетообразный. Спинные плавники у половозрелых особей соприкасаются, у неполовозрелых разделены промежутком. Зубы ротовой воронки хорошо развиты и в течение всего года, кроме периода нереста, острые. Нижнегубные зубы в виде узкой полоски из одного ряда зубов. На верхнечелюстной пластинке – 2 зуба, на нижнечелюстной – 6–7 зубов. Боковые губные зубы двураздельные. В отличие от сибирской, у тихоокеанской миноги кишечник не атрофирован, его диаметр – 4–20 мм.

*Lethenteron kessleri* (Anikin, 1905) – **ручьевая, сибирская минога**. Мелкая (до 25 см), непроходная минога. Видовой статус этой миноги дискутируется. Внешне имеет сходство с тихоокеанской миногой, но отличается от нее несколько меньшими размерами и меньшей плодовитостью. Верхнечелюстная пластинка широкая и имеет по краям по одному зубу. Нижнечелюстная пластинка обычно с 6–7 зубами (редко

5 и 8–10), из которых внешние, а иногда и некоторые средние, раздвоены. Внутренние боковые губные зубы – по 3 с каждой стороны, в основном двураздельны. Верхние губные зубы (17–25) имеют радиальное расположение и уменьшаются от центра к периферии. Нижние губные зубы (16–25) образуют один дугообразный ряд; у многих особей они очень мелкие, но отсутствуют редко. В период нереста зубы бывают тупыми.

Класс OSTEICHTHYES – костные рыбы и четвероногие

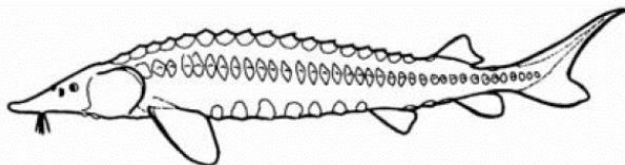
Подкласс ACTINOPTERYGII – лучепёрые рыбы

Инфракласс CHONDROSTEI – хрящекостные

Отряд ACIPENSERIFORMES – осетрообразные

Семейство ACIPENSERIDAE – осетровые;

**sturgeons.**



Вдоль тела пять рядов костных жучек. Рыло вытянутое, рот на нижней стороне головы. Хвостовой плавник неравнолопастный – верхняя лопасть длиннее нижней.

*Acipenser baerii* Brandt, 1869 – **осётр сибирский**.

В спинном плавнике (D) – 30–58 лучей, в анальном (A) – 15–33. Спинных жучек – 10–20, боковых 32–62, обычно 42–47, брюшных – 7–16. Жаберных тычинок 20–49, жаберные тычинки в форме веера (оканчиваются несколькими рожками). Рыло умеренной длины (у молодых особей более заостренное, нежели у взрослых). Усики не бахромчатые. Нижняя губа прервана.

*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 – **стерлядь**.

В спинном плавнике 32–49 лучей, в анальном – 16–34. Спинных жучек – 11–18, брюшных – 10–20. От других видов р. *Acipenser* хорошо отличается большим числом боковых жучек (число их колеблется от 56 до 71). Рыло более или менее вытянутое. Жаберные тычинки не в форме веера. Усики бахромчатые.

Отдел TELEOSTEI – костистые, или конечнокостные, рыбы

Подотдел OSTARIOCLUPEOMORPHA (= ОТОСЕРФАЛА)

– остариоклюпеоморфы (= отоцефалы)

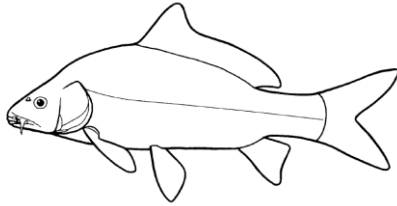
Надотряд OSTARIOPHYSI – костнопузырные

Серия Otophysi – отофизы

Отряд CYPRINIFORMES – карпообразные

Надсемейство Cyprinoidea – карпоподобные

Семейство CYPRINIDAE – карповые; **minnows, carps, loaches**



Пресноводные, очень редко обитают в солоноватой воде. Семейство Cyprinidae – самое большое семейство пресноводных рыб. Примерно 220 родов и 2420 видов. В бассейне р. Обь встречается около 16 видов. Костных жучек вдоль тела нет. Голова симметричная, глаза расположены по обе стороны от продольной плоскости головы; рыбы плавают вверх спиной. Спинной плавник один. Жирового плавника нет. Усиков либо нет совсем, либо есть, но не более двух пар. Рот без зубов, но хорошо развиты зубы (глочные зубы) на увеличенных серповидных нижнеглоточных костях.

Подсемейство Cypriniinae:

*Carassius carassius* (Linnaeus, 1758) – **обыкновенный (золотой) карась**.

Морфологические особенности: Формулы спинного и анального плавников: D III–IV 14–21, чаще 15–19; A II–III 5–8. В боковой линии 32–36 чешуй, жаберных тычинок 23–35, чаще 26–31, глоточные зубы однорядные, 4–4, позвонков 30–34. Отмечают высокотелую и низкотелую формы в зависимости от кормности водоема. Тело короткое, высокое, сжатое с боков, покрытое золотистого оттенка чешуей. Рот конечный, без усиков. Последние неветвистые лучи спинного и анального плавников в виде колючки, по заднему краю с мелкими зазубринами. Чешуя крупная, с равномерно нарастающими по всей окружности склеритами.

*Carassius gibelio* (Bloch, 1782) – **серебряный карась**.

Морфологические особенности: D III–IV 17–18 (14–19); A II–III 5 (4–6); P I 16 (14–17); V I (7) 8. Боковая линия полная и насчитывает 30 (28–34) чешуй. Жаберные тычинки длинные, число их на первой жаберной дуге в среднем 46 (39–50). Глоточные зубы однорядные, 4–4. Позвонков 29–33, чаще 29–30, зубчики на последнем неветвистом луче спинного плавника относительно крупные.

*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 – **сазан, обыкновенный карп**.

С конца 50-х гг. акклиматизирован в Новосибирское водохранилище. Отсюда он проник в русло Оби ниже плотины ГЭС. Натурализа-



ция, видимо, произошла в середине 80-х гг.

Морфологические особенности: D III–IV (V) 15–22, A III–IV 5–6. В боковой линии 32–41 чешуй. Жаберных тычинок 21–29. Глоточные зубы крупные, жевательного типа, трехрядные: 1.1.3–3.1.1, реже 1.2.3–3.2.1. Позвонков 36–38. Усиков две пары. Длина кишечника в 2,5–3 раза превосходит длину тела.

Подсемейство Squaliobarbinae:

*Stenopharyngodon idella* (Valenciennes, 1844) – **белый амур**.

Объект аквакультуры.

Морфологические особенности. D III 7, A III 8. Жаберные тычинки короткие, в числе – 12–18; в боковой линии – (37) 39–47 чешуй. Глоточные зубы двурядные, обычно 2,5–5,2, сильно зазубренные. Радужина глаз золотистая; по краю каждой чешуйки темная полоска; спинной и хвостовой плавники темные.

Подсемейство Tincinae:

*Tinca tinca* (Linnaeus, 1758) – **линь**.

Морфологические особенности. D III–V 7–9, P I 16–19, V II 9, A III–IV 6–8. Жаберные тычинки длинные, в числе – 10–16; в боковой линии – 85–120. Позвонков – 37–42. Глоточные зубы однорядные: 4–5 или 5–4, реже – 4–4 или 5–5. Тело округлое, довольно высокое, покрыто плотно сидящей чешуей, хвостовой стебель толстый. Рот конечный, в углах его по короткому усика. Глаза маленькие, ярко-красные. Края всех плавников закруглены.

Подсемейство Xenosyrinae:

*Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes, 1844) – **белый толстолобик**.

Объект аквакультуры. Спорадически проникает из рыбоводных хозяйств в речную систему, единичные особи ежегодно отмечаются в р. Оби.

Морфологические особенности. D II 7, A II–III 11–14. Жаберные тычинки очень длинные, тонкие, соединяются между собой в сплошную ленту вдоль переднего края жаберной дуги; чешуя мелкая в боковой линии – 109–125. Глоточные зубы однорядные, 4–4, очень сильные. Кишечник очень длинный, более чем в 10 раз превосходит длину тела. Не покрытый чешуей киль тянется от горла до анального отверстия; жаберные перепонки сращены между собой и образуют складку поперек межжаберного промежутка.

Подсемейство Gobioninae:

*Gobio synocephalus* Dybowski, 1869 – **амурский (сибирский пескарь)** [= *G. gobio synocephalus*].

Морфологические особенности. D III 7, A II–III 6–7, V I (II) 7(8); P I

(14) 15–16. В боковой линии (38) 40–45 чешуй (обычно 42–43). Жаберные тычинки очень короткие, бугорковидные, их число 2–6, чаще не более 4 или их вообще нет. Глоточные зубы двурядные, вытянутые в крючок: 3,5–5,3. Позвонков 39–41. Тело удлиненное, вальковатое. По бокам тела ряд темных пятен.

Подсемейство *Leuciscinae*:

*Abramis brama* (Linnaeus, 1758) – **лещ**.

Акклиматизант, был интродуцирован в оз. Убинское (1929 г.), а так же в ряде других озер и водохранилищ Урала, Сибири, Забайкалья. В настоящее время по руслу Оби распространен вплоть до устья.

Морфологические особенности: D III 8–12, P I 13–17, V II 7–9, A III 20–30. Жаберных тычинок – 18–28, чешуй в боковой линии – 49–60. Глоточные зубы чаще однорядные 5–5, 6–5 или 5–6, редко двурядные: 1,5–5,1. Позвонков – 41–47. Тело очень высокое, сильно сжатое с боков.

*Alburnus alburnus* (Linnaeus, 1758) – **уклейка** [= *A. charusini* Herzenstein, 1889].

В Западной Сибири является случайным вселенцем. Впервые обнаружена в начале 70-х гг. прошлого века в оз. Хорошем Бурлинской системы озер, куда, видимо, попала вместе с завозившимся туда карпом.

Морфологические особенности: Количество лучей в плавниках: D III 8–9, P I 14, V II 8, A III 14–21. Число чешуй в боковой линии варьирует в пределах 46–52. Количество жаберных тычинок на первой жаберной дуге колеблется от 20 до 25. Глоточные зубы 2,5–5,2, слегка зазубренные. Тело удлиненное, стройное, сжатое с боков. Рот конечный, косо направлен вверх. Глаза большие. Чешуя тонкая, ярко-серебристая, легко опадающая и обильно «уклеивает» руки рыболова. Между брюшным и анальным плавниками имеется кожистый киль без чешуи. Анальный плавник удлиненный.

*Leucaspis delineatus* (Neckel, 1843) – **верховка**.

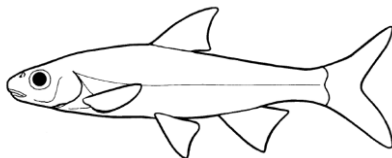
Случайный вселенец. В водоемах Западной Сибири впервые появилась в прудах Ояшинского карпового питомника, куда попала вместе с карпом в 1962 г. К настоящему времени известна из Верхней Оби, Ишима, Тобола и Томи.

Морфологические особенности: D III 7–9, A III 10–14. Боковая линия неполная, число прободенных чешуй прекращается на первых 2–13 чешуях, в целом варьирует от 0 до 19. Жаберных тычинок 10–17, чаще 14–16. Глоточные зубы двурядные 1,5–4,1 или 1,5–5,1, реже однорядные 5–4 или 5–5. Позвонков 38–40. Чешуя относительно крупная, легко опадающая. Маленькие рыбки.

*Leuciscus idus* (Linnaeus, 1758) – **язь**.

Морфологические особенности: D III 7–10 (чаще 8–9), A III 9–12, чешуй в боковой линии 56–68, чешуя мелкая, плотная. Жаберные тычинки короткие и редкие 9–13. Позвонков – 44–46. Глоточные зубы двурядные 3,5–5,3, рот конечный. Окраска тела серебристо-желтоватая. Все плавники красноватого оттенка, особенно ярко окрашены брюшные и анальный.

*Leuciscus leuciscus* (Linnaeus, 1758) – **обыкновенный елец**.



Морфологические особенности: D III 7–8, обычно 7, P I 14–18, V I 7–9, A III 9–11, чаще 9. Жаберные тычинки короткие, 6–13, число прободенных чешуй 48–58. Позвонков 39–45. Глоточные зубы двурядные, незазубренные, 2,5–5,2 или 3,5–5,3. Для ельца, в отличие от язя и плотвы характерно наличие в спинном плавнике всего 7 (очень редко 8) ветвистых лучей (последний, сдвоенный луч считается за один).

*Phoxinus phoxinus* (Linnaeus, 1758) – **обыкновенный гольян**.

Морфологические особенности: D III 7–8; A III 6–8; P I 13–15; V II 6–8. Жаберных тычинок – 5–12. Боковая линия не всегда доходит до хвостового стебля, но всегда прерывистая – 44–92 чешуй. Позвонков 39–43. Глоточные зубы двурядные: 2,5–4,2, реже 2,4–4,2. Чешуя очень мелкая овальной (в поперечном направлении) или округлой формы.

На боках тела темные пятна неопределенных очертаний, иногда располагаются одно за другим в виде продольного ряда; мелких резко очерченных темных пятнышек на боках тела никогда не бывает; у половозрелых самцов на голове развиваются роговые бугорки; тело удлиненное веретенообразное; толщина хвостового стебля обыкновенно больше наименьшей высоты тела; пространство между ноздрями выпуклое.

*Rhynchocypris [Phoxinus] czekanowskii* (Dybowski, 1869) – **гольян Чекановского**.

Морфологические особенности: D III 7; A III 7. Жаберных тычинок – 6–8. Глоточные зубы двурядные, 2,5–4,2, реже 2,5–5,2, на вершине с крючком. Позвонков 39. Вдоль тела полосы нет; грудные плавники короткие; боковая линия развита только в начале тела или отсутствует; длина рыла обычно больше ширины лба.

*Rhynchocypris [Phoxinus, Eupallasella] percunurus* (Pallas, 1814) – **озерный гольян** [? = *Phoxinus sachalinensis* Berg, 1907 – сахалинский

озерный голянь].

Морфологические особенности: D III 6–8; A III 6–8; P I 13–14; V I 6. Боковая линия полная у одних популяций и неполная у других, в ней 68–90 чешуй, из которых всего 10–65 прободенных у особей с полной линией. Жаберных тычинок – 8–12. Глоточные зубы двурядные, с крючком на конце, 2,5–4,2, реже 2,5–5,2. Позвонков 37–41. Тело высокое: наибольшая высота тела больше длины хвостового стебля (обычно более 24% длины тела); длина рыла обычно меньше ширины лба. Окраска либо одноцветная, либо по бокам тела есть резко очерченные маленькие пятнышки или продольная темная полоса.

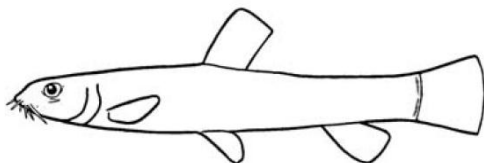
*Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758) – **плотва**.

Морфологические особенности: D III 9–11, чаще III 10, A III 9–12, чаще III 10, число чешуй в боковой линии 39–46, чаще 41–43 в среднем 42; количество тычинок на первой жаберной дуге 10–17, чаще 12–13 (в среднем 12,4). Позвонков 39–43. Глоточные зубы однорядные, обычно 6–5 или 5–5. Радужина глаз оранжево-красная. Все плавники кроме спинного и хвостового, имеют оранжево-красноватых оттенков.

Надсемейство Cobitoidea – вьюноподобные

Семейство COBITIDAE – вьюновые; **loaches**

Пресноводные. Выделено два подсемейства: Cobitinae (кобитины; приблизительно 19 родов, в том числе *Cobitis*, *Misgurnus*) и Botiinae (ботиины; семь родов, в том числе *Parabotia*, *Leptobotia*). Примерно 26 родов и 177 видов. В водах России встречаются не менее 16 видов. В бассейне р. Оби 2 вида.



*Cobitis melanoleuca* Nichols, 1925 – **сибирская щиповка**.

Морфологические особенности. D II–III 6–7, A II–III 5–6, P I 6–8, V I–II 5–6. Жаберных тычинок 10–12. Позвонков 42–46. Глоточные зубы однорядные. Тело удлиненное, сильно сжатое с боков. Глаза маленькие, покрытые прозрачной кожей, расположены у верхнего контура сильно сжатой, особенно, в верхней части головы. Рыло округлое и горбатое. Под глазом имеется скрытый в коже раздвоенный шип (двураздельный подглазничный шип). Рот нижний, небольшой, обрамленный характерной мясистой двулопастной нижней губой, усиков 6, из них 4 на конце рыла и 2 в углах рта. Окраска сильно варьирует, по бокам тела ряд бурых пятен (12–16), которые иногда сливаются в широ-

кую полосу.

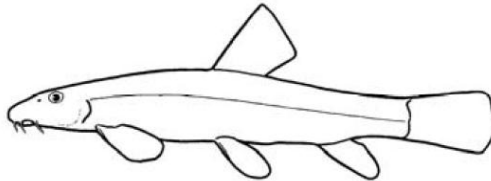
*Misgurnus nikolskyi* Vasil'eva, 2001 – **вьюн Никольского**.

Обнаружен в окрестностях г. Новосибирска в двух разных местобитаниях, не связанных между собой, а также в протоке Симан (р. Обь, Томская область). Проникновение его в водоемы бассейна р. Обь, скорее всего, связано с интродукционными работами, проводившимися на Новосибирском водохранилище, в которое в конце 50-х гг. прошлого века завозились с Дальнего Востока белый амур и белый толстолобик. Видимо, с ними он и был завезен.

Морфологические особенности: D III 6; A III 5. Усиков 10, из них 4 на нижней челюсти; под глазом нет складного шипа. Тело удлиненное, умеренно низкое (максимальная высота тела составляет 8,4-10,5 раз по длине тела без каудального плавника). Голова маленькая, ее длина содержится в длине тела 5.5–8.5 раз. Спинной плавник сдвинут в заднюю половину тела: его начало заметно ближе к заднему концу хвостового плавника, чем к концу рыла. Основания брюшных плавников находятся на уровне начала спинного плавника.

Семейство BALITORIDAE – балиторовые; **hill-stream; river loaches**

Пресноводные. Выделено два подсемейства: Nemacheilinae (немахеилины; не менее 30 родов, в том числе *Barbatula*, *Lefua*, *Orthrias* и *Triplophysa*), Balitorinae (балиторины; примерно 29 родов). Приблизительно 59 родов и 590 видов. В бассейне р. Оби 1 вид.



*Barbatula toni* (Dybowski, 1869) – **сибирский голец**.

Согласно последней ревизии (Прокофьев, 2007) усатый и сибирский голец должны быть отнесены к роду *Orthrias* Jordan & Fowler, 1903 – усатые (обыкновенные голец), а принятый в настоящий момент видовой статус сибирского и кобдинского голецов нуждается в уточнении.

Морфологические особенности: D II–IV 7, P I 10–15, V II 6–9, A II–III 5–7, позвонков 41–47, число пор в боковой линии 55–87, жаберных тычинок на первой жаберной дуге 10–12.

Тело невысокое, умеренно вальковатое, покрытое слоем слизи. Голова маленькая, рыло длинное, невысокое, рот нижний, губы мясистые, усиков 6 (четыре из них на конце рыла и два в углах рта), голова

не сжата с боков. Тело покрыто, не налегающей друг на друга очень мелкой (менее 0,5 мм) чешуей округлой формы. Хвостовой плавник выемчатый.

Подотдел EUTELEOSTEI – настоящие костистые рыбы

Этот таксон включает всех остальных костистых рыб. Современный состав этой группы – 28 отрядов, 346 семейств, 2 935 родов и 17 419 видов.

Надотряд PROTACANTHOPTERYGII – протакантоптеригии

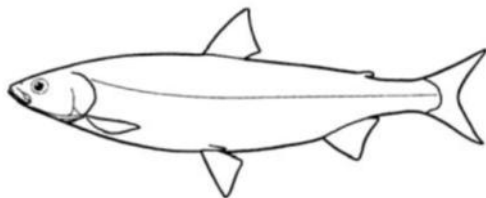
Отряд SALMONIFORMES – лососеобразные; **trouts; salmon; whitefish.**

Этот таксон у Дж. Нельсона (Нельсон, 2009; Nelson, 2006) включает только одно семейство Salmonidae. В отечественной ихтиологии доминирующими являются позиции, признающие все-таки статус семейств для этих трех подсемейств Salmonidae (сем. Coregonidae – сиговые, Thymallidae – хариусовые и Salmonidae – лососевые).

Семейство SALMONIDAE – лососевые; **trout, salmon; whitefish.**

Всего в составе этого семейства, как отмечает Дж. Нельсон, 11 родов и примерно 60 видов.

Подсемейство Coregoninae:



Чешуя относительно крупная, в боковой линии обычно менее 120 чешуй. Тело серебристое, темных пятен нет. Зубы на челюстях отсутствуют или очень слабые. Верхняя челюсть короткая, обычно не заходит за вертикаль заднего края глаза.

*Coregonus muksun* (Pallas, 1814) – **муксун.**

Является типичным полупроходным видом и образует локальные стада, связанные с главными реками, впадающими в Северный Ледовитый океан – Обью, Гыдой, Енисеем, Пясиной, Хатангой, Анабаром, Леной, Яной, Индигиркой и Колымой.

Морфологические особенности: D III V – 9–13 (чаще IV – 11), P I 13–17, V II 9–13, A III–V 10–14 (IV – 12). Жаберных тычинок – 42–65, в Норильских озерах – до 78; чешуй в боковой линии – 80–107 (чаще – 87–94). Позвонков – 61–65 (чаще – 62). Пилорических придатков –

163–326. Рот нижний, рыло тупое и вытянутое, верхняя челюсть заметно выделяется над нижней. Ширина рыльной площадки в 1,5–2,2 раза больше ее высоты. Череп спереди сужается. Тело за головой круто поднимается вверх. Большая верхняя челюсть заметно выдается над нижней. Длина верхней челюсти в 2,5–3,5 раза больше ее ширины. Окраска чешуи серебристая.

*Coregonus peled* (Gmelin, 1789) – **пелядь, сырок**.

Подвиды не выделены, но имеются экологические формы – речная, озерно-речная и типично озерная. В Оби, кроме названных форм, выделяют стада полупроходной пеляди – обское и тазовское.

Морфологические особенности: D III–V – 8–12, P I – 14–16, V II – 10–14, A III–V – 12–16. Жаберных тычинок – 46–69; чешуй в боковой линии – 76–102. Позвонков – 57–63. Пилорических придатков – 70–170. Рот конечный, верхняя челюсть несколько выдается над нижней, верхнечелюстная кость заходит за вертикаль переднего края глаза. Тело высокое (более 20 % длины тела), сразу же за затылком спина круто поднимается вверх, тело не круглое, а сжатое с боков. По сравнению с другими сиговыми, чешуя пеляди имеет более темную окраску, на голове и боках разбросаны темные крупные пятнышки, на спинном плавнике много черных точек в несколько рядов.

*Coregonus tugun* (Pallas, 1814) – **тугун**.

В настоящее время тугун сохранился только в нижних участках и некоторых притоках бассейна Оби (р. Северная Сосьва и др.: *C. t. sossvinka*). Локальная популяция тугуна из бассейна рр. Томи и Чулыма (*C. t. manerka*) исчезла.

Морфологические особенности: D III–V 7–12, P I 12–15, V II 8–11, A III–IV (V) 10–14. Жаберных тычинок – 21–39, чаще – 26–28; чешуй в боковой линии – 53–80, чаще – 60–68. Позвонков – 50–57. Пилорических придатков – 12–56. Тугун – небольшая рыба с вальковатым телом и широкой спиной. Внешне похож на ряпушку, но в отличие от нее имеет конечный рот и меньшее число жаберных тычинок. Чешуя у тугуна тонкая, легко опадающая. Окраска тела обычная для сиговых рыб.

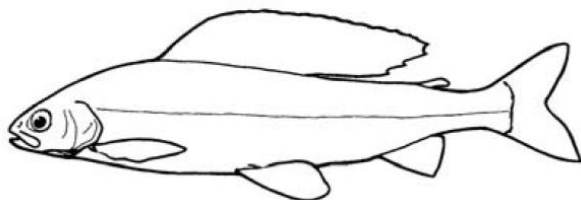
*Stenodus leucichthys nelma* (Pallas, 1773) – **нельма**.

Нельма – полупроходная рыба, нагуливающаяся в низовьях сибирских рек.

Морфологические особенности: D III–V (9) 10–13, P I 12–17, V II 9–11, A III–V 9–11. Жаберных тычинок – 17–27; Чешуя относительно мелкая, в боковой линии – 96–121. Позвонков – 66–71. Пилорических придатков – 88–239. Нельма – крупная рыба с большим конечноротом. Нижняя челюсть выдается вперед и спереди круто заги-

бается вверх, в виде «зуба» входит в выемку верхней челюсти. На челюстях, сошнике и языке имеются мелкие зубы. Носовое отверстие поделено двумя перегородками. Чешуя крупная, циклоидная. Окраска тела на спине от темно-зеленой до светло-коричневой, на брюхе и боках серебристая. Рот большой; верхняя челюсть достигает середины глаза.

Подсемейство Thymallinae:



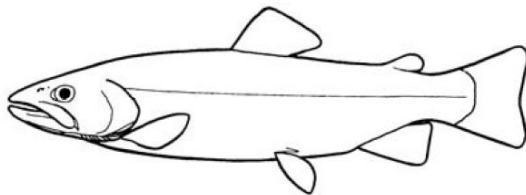
*Thymallus arcticus* (Pallas, 1776) – **сибирский хариус**.

Морфологические особенности: D V–X (XIV) 10–17, P I 13–16, V II 8–10, A (II) III–IV (V) 7–12. Жаберных тычинок 14–22; чешуй в боковой линии 77–107. Позвонков 54–62 (64). Пилорических придатков 11–33.

*Thymallus nikolskyi* Kaschenko, 1899 – **хариус Никольского (верхнеобской хариус)**.

Морфологические особенности: Чешуя в боковой линии относительно крупная от (68) 70 до 92; в среднем 78–84. Неветвистых лучей в спинном плавнике (6) 7–10 (11); в среднем 7,7–8,9. Длина спинного плавника в среднем составляет около 23% от длины по Смитту.

Подсемейство Salmoninae:



*Brachymystax lenok* (Pallas, 1773) – **острорылый ленок**.

По совокупности внешних фенетических признаков их соответственно относят к тупорылой и острорылой формам, имеющим морфологические и генетические различия. В настоящее время эти формы некоторыми авторами рассматриваются в Обь-Иртышском бассейне как аллопатричные виды. Существуют возражения против идентификации обь-иртышских ленков и вообще придания им видового статуса. Окончательно не решен вопрос о возможном присутствии острорылого ленка в верхнем течении р. Оби и ее верхних притоках.



Морфологические особенности: D III–IV (V) 9–12, P I 13–16, V I 9–10, A III–IV (V) 8–11. Жаберных тычинок: у ленка из Оби – 19–25, чаще – 20–22, из рек Восточной Сибири – 22–31; LL – 132–175. Позвонков – 57–62. Тело вальковатое, рот конечный или полунижний, у многих особей верхняя челюсть заметно выступает вперед за счет разрастания кожистого слоя. Зубы на сошнике и небе образуют непрерывную подковообразную полосу. Зубы на челюстях слабые, верхнечелюстная кость не заходит за вертикаль заднего края глаза. На боках тела имеются округлые темные пятна, у молодых особей – поперечные полосы.

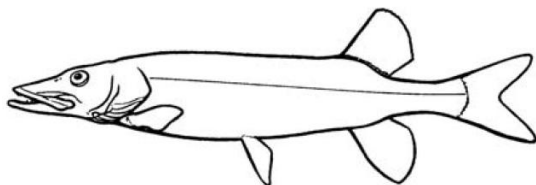
*Hucho taimen* (Pallas, 1773) – **обыкновенный таймень**.

Морфологические особенности: D III–V 9–12, P I 14–16, V I 9–10, A III–IV (7) 8–10. Жаберных тычинок – (9) 11–12 (16). Чешуя мелкая, поперечных рядов – 190–242, в среднем – 215 чешуй. Позвонков – 64–71. Пилорических придатков – 160–250. Тело низкое, прогонистое, удлиненное, спина широкая, спинной плавник задним краем своего основания приходится над брюшным плавником. Голова большая, уплощенная, лоб широкий. Верхняя челюсть широкая, заходит за вертикаль заднего края глаза.

Отряд ESOCIFORMES – щукообразные; **pikes**

Семейство ESOCIDAE – **pikes**

Пресноводные. Один род с пятью видами. В бассейне р. Оби обитает только один вид.



*Esox lucius* Linnaeus, 1758 – **щука обыкновенная**.

Морфологические особенности: D IV–IX 13–19, P I 11–17, V I–II 7–12, A III–VIII 10–15. Жаберные тычинки короткие и толстые, с расплющенной вершиной, в числе 29–45, чаще 33–39, общее число чешуй в боковой линии 105–153, в том числе прободенных – 40–60. Тело удлиненное, торпедообразное, сжатое с боков. Спинной плавник сдвинут далеко позади, расположен над анальным плавником.

Надотряд PARACANTHOPTERYGII – паракантоптеригии

гии

Отряд GADIFORMES – трескообразные; **cods; hakes**

Подотряд Gadoidei:

Надсемейство Gadoidea:

Семейство GADIDAE – тресковые; **cods**.  
Морские, с одним голарктическим пресноводным видом.



Подсемейство Lotinae (лотины):

Колючих лучей в плавниках нет. Спинных плавников два. На подбородке есть усик.

*Lota lota* (Linnaeus, 1758) – **налим**.

Морфологические особенности: D<sub>1</sub> – 8–19, D<sub>2</sub> – 46–91, P – 12–24, V – 6–10, A – 52– 85. Жаберных тычинок – 4–14. Позвонков – 60–67. Пилорических придатков в азиатской части ареала – 42–180. Тело удлиненное, округлое в передней части и сильно сжатое с боков – в задней. Глаза маленькие. Рот большой, полунижний. Верхняя челюсть достигает вертикали заднего края глаза, нижняя челюсть короче верхней. На подбородке один усик, у переднего края ноздрей – по одному короткому усiku. Спинных плавников два, передний – короткий, задний – длинный. Анальный плавник тоже длинный.

Серия PERCOMORPHA – перкоморфы

Деять отрядов, 245 семейств, 2 212 родов и более 13 173 видов включены в этот таксон.

Отряд GASTEROSTEIFORMES – колюшкообразные;

**sticklebacks**

Некоторые авторы выделяют отдельно Gasterosteidae и Syngnathidae в отдельные отряды (Gasterosteiformes и Syngnathiformes).

Подотряд Gasterosteidae – колюшковидные

Семейство GASTEROSTEIDAE – колюшковые;

**sticklebacks**

В водах России встречаются не менее 9 видов. В бассейне р. Оби 1–2 вида.



*Pungitius pungitius* (Linnaeus, 1758) – **девястиглая колюшка**.

Морфологические особенности: D (VI) VII–XII (6) 7–10, P (9) 10, V I 1, A I (6) 7–9. Жаберных тычинок – 12–13. Позвонков – 30–35. Спинных колючек 9–10. Брюшные колючки не зазубрены. Тело торпедооб-

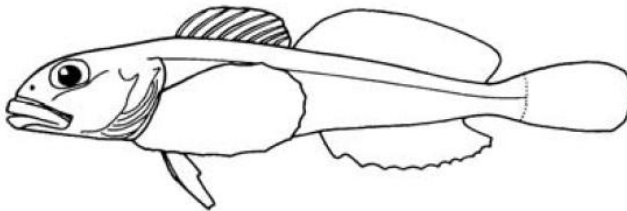
разной формы, голое в передней части, над грудными плавниками покрыто мелкими пластинками.

Отряд SCORPAENIFORMES – скорпенообразные;  
**mailcheeked fishes.**

Подотряд Cottoidei – керчаковидные, рогатковидные.

Семейство COTTIDAE – керчаковые, рогатковые;  
**sculpins.**

Морские и пресноводные. В водах России встречаются не менее 120 видов. В бассейне р. Оби 2 вида.



*Cottus altaicus* Kaschenko, 1899 – **алтайский подкаменщик (сибирский пестроногий).**

Морфологические особенности:  $D_1$  VII–X,  $D_2$  16–19, P 12–16, V I 4, A 11–15. Жаберных тычинок – 3–9. В канале боковой линии – 28 мелких пор, на подбородке – две поры. Позвонков – 32–36. Как и у всех других представителей семейства, чешуя отсутствует. Голова и рот большие. Передние ноздри в виде коротких, прямых трубочек. Глаза сравнительно маленькие. Многочисленные и мелкие зубы имеются только на челюстях. На предкрышке – 2 шипа. Спинные плавники не соединены кожистой складкой. Второй спинной плавник длиннее анального, но примерно равной с ним высоты. Грудные плавники короткие, брюшные – длинные, первый луч значительно меньше остальных.

*Cottus sibiricus* Warpachowski, 1889 – **сибирский подкаменщик.**

Морфологические особенности:  $D_1$  VII–IX;  $D_2$  16–19; A 12–14 (16); P 15–16; V I 4. Канал боковой линии имеет 40 пор, на подбородке – одна пора. Жаберных тычинок 6. Пилорических придатков 3, все они сравнительно короткие. Голова хорошо вооружена: на предкрышке – 3 шипа. Рот большой. Глаза маленькие, межглазничный промежуток широкий. Обычно кожа на голове, спине и боках выше боковой линии густо покрыта костными шипиками. Грудные плавники короткие, оканчиваются на вертикали первых лучей  $D_2$ . Брюшные плавники длинные и, как правило, доходят до анального отверстия, первый луч по длине не значительно короче остальных. Спинные плавники соеди-

няются друг с другом; второй спинной плавник длиннее анального. Лучи в плавниках (кроме хвостового) неветвистые и толстые.

Отряд PERCIFORMES – окунеобразные; **perches**.

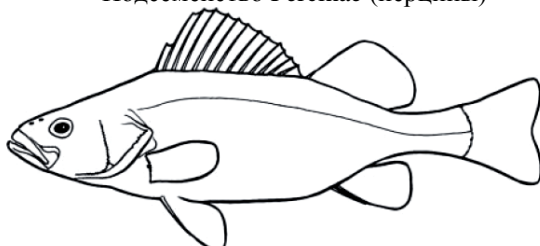
Подотряд Percoidei – окуневидные.

Надсемейство Percoidea – окунеподобные.

Семейство PERCIDAE – окуневые; **perches**.

Пресноводные; Северное полушарие. Выделены три подсемейства – Percinae (перцины; три рода *Gymnocephalus*, *Perca* и *Percarina*), Luciopercinae (люциоперцины; три рода, в том числе *Sander*) и Etheostomatinae (этеостоматины; четыре рода, всего 184 описанных вида). Десять родов и 201 вид; 14 видов в Евразии.

Подсемейство Percinae (перцины)



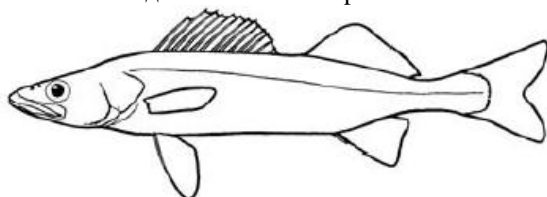
*Gymnocephalus cernua* (Linnaeus, 1758) – **обыкновенный ёрш** [= *G. cernuus*].

Морфологические особенности: D XI–XVI 10–15; P I 13; V I 5; A II 5–6; жаберных тычинок на первой дуге 10–13; чешуй в боковой линии 35–40; позвонков 35–36. Спина и бока зеленовато-коричневые с темными пятнами, брюхо белое; спинной и хвостовой плавники покрыты темными пятнами. Дополнительно в приложении 26 представлены данные из некоторых водоемов. Спинные плавники соединены. Рот полунижний. Рыло тупое, короткое, не длиннее диаметра глаза. Крышечная и предкрышечная кости с шипиками.

*Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758 – **обыкновенный (речной) окунь**.

Морфологические особенности: D<sub>1</sub> XII–XVII, D<sub>2</sub> I–IV 12–17, P I–II 10–16, V I (4) 5–6, A I–III 7–11. Жаберных тычинок 16–19; число прободенных чешуй в боковой линии – 53–74. Позвонков – 38–44. Тело покрыто мелкой ктеноидного типа чешуей. На жаберной крышке – один прямой шип, предкрышка сзади зазубрена. Два спинных плавника соприкасаются или немного раздвинуты, первый спинной выше второго. Тело зеленовато-желтое, на боках – 5–9 поперечных черных полос. Первый спинной плавник серый, с черным пятном на конце, второй спинной – зеленовато-желтый, грудные плавники желтые, иногда красные.

Подсемейство Luciopercinae



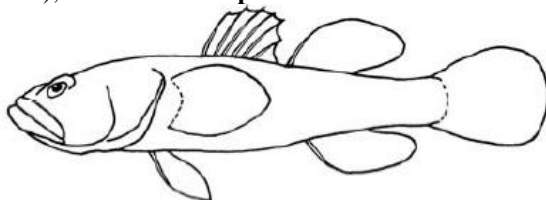
*Sander [Stizostedion] lucioperca* (Linnaeus, 1758) – **обыкновенный судак.**

Акклиматизант. Появление судака в Обском бассейне относится к 1959–1964 гг., когда в Новосибирское водохранилище были завезены его личинки с целью акклиматизации из озер Жижицкого и Селигер, Куршского залива Балтийского моря и Рыбинского водохранилища. Уже с 1967 г. здесь начался промысловый лов судака и вместе с тем произошел его вынос за пределы нижнего бьефа Новосибирской ГЭС на 600–700 км. Судак проник и в низовье Оби, случаи поимки его отмечены даже в Тазовской губе.

Морфологические особенности: D<sub>1</sub> XIII–XVII, D<sub>2</sub> I–III 19–24, P I 14–18, V I 5, A II–III 10–14. Жаберных тычинок – 10–16, они короткие в виде бугорков, густо усаженных зубчиками; чешуй в боковой линии – 80–97. Позвонков – 45–48. Тело удлинненное, сжатое с боков. Рот большой. Верхняя челюсть заходит за вертикаль заднего края глаза. Зубы расположены узкими рядами на челюстях, сошнике и небных костях. Предкрышечная кость по заднему краю зазубрена, внизу – с шипами. Спина и верх головы зеленовато-серые, брюхо белое. На боках – 8–12 буро-черных поперечных полос. На спинных и хвостовом плавниках – ряды темных пятен, расположенных на перепонках между лучами.

Подотряд Gobioidi – бычковидные.

Семейство ODONTOBUTIDAE – одонтобутовые (головешковые); **freshwater sleepers.**



Пресноводные; Северный Вьетнам, Китай, Корея, Япония и Россия.

Представители этого семейства раньше входили в Eleotridae. Пять родов и примерно 15 видов.

В водах России встречаются 2 вида. В бассейне Оби один вид.

*Perccottus glenii* Dybowski, 1877 – **головешка, ротан, ротан-головешка.**

Случайный вселенец. Предполагается, что в начале 1970-х гг. был выпущен аквариумистами в озера поймы р. Томи. В настоящее время активно распространяется по руслу Оби.

Морфологические особенности: D<sub>1</sub> VI–VIII, D<sub>2</sub> I–II – 9–11, P I – (10) 12–13 (14), V I – 5, A I–III – 7–10. Жаберных тычинок – 9–13. Позвонков – 28–30. Тело спереди вальковатое, сзади сжатое. Голова большая, ее длина укладывается не более 3 раз в длине тела. За головой горб. Рот конечный, большой и широкий. Нижняя челюсть выдается вперед. Тело покрыто чешуей; брюшные плавники сильно сближены и соприкасаются основаниями.

## 1.2 Биологический анализ

Отловленная рыба после определения видовой принадлежности, подвергается биологическому анализу, который проводится согласно имеющимся руководствам (Правдин, 1966; Романов и др., 2012). Биологический анализ предусматривает определение линейных и весовых размеров, возраста по чешуе (отолитам, плоским костям, лучам плавников, жаберным крышкам и др.) и пола по половым органам.

При определении линейных размеров рыбы пользуются такими промерами: для щуковых, карповых и окуневых определяется длина тела ( $l$ , мм) – от вершины рыла до основания хвостового плавника (до конца чешуйного покрова); для лососевых – длина по Смитту ( $l_{sm}$ , мм) – от вершины рыла до конца средних лучей хвостового плавника; у осетровых – абсолютная длина ( $L$ , мм) – от вершины рыла до вертикали конца верхней лопасти хвостового плавника.

Методика сбора чешуи очень проста при сборе во всех случаях, когда это возможно, следует брать её с середины тела: выше или ниже боковой линии, не захватывая её, под спинным плавником или чуть впереди него (рис. 1). Если же спинных плавников несколько (2–3), то чешую берут под первым, расположенным ближе к голове. Если у рыбы нет четко выраженной боковой линии (сибирский голец, верховка), то чешую берут с середины бока рыбы, также под спинным плавником. Когда у отловленной рыбы чешуя почти отсутствует (легко опадающая), тогда её берут там, где она ещё сохранилась, даже деформированную чешую из-под грудного плавника. Все определения в этом

случае приблизительны. Желательно выбирать для исследования чешуйки наиболее правильной формы и без разрушенного центра.

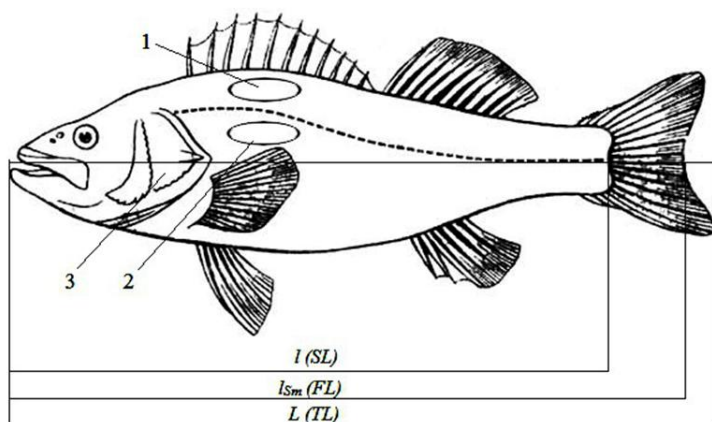


Рис. 1. Основные промеры рыб, структуры регистрирующие возраст, места их локализации

Примечание: 1 – Чешуя над боковой линией; 2 – чешуя под боковой линией; 3 – жаберная крышка (оперкулум);  $l$  – длина тела от начала рыла до конца чешуйного покрова ( $SL$  – *standard length*);  $l_{sm}$  – длина по Смитту ( $FL$  – *fork length*) – от вершины рыла до конца средних лучей хвостового плавника;  $L$  ( $TL$  – *total length*) – от вершины рыла до вертикали конца верхней лопасти хвостового плавника

На многих костях рыб, как и на чешуе, правильно чередуются светлые и темные полоски, наблюдается картина, повторяющая рисунок чешуи.

Для видов рыб, с очень мелкой чешуей или бесчешуйных можно использовать для определения возраста следующие костные структуры: четыре кости жаберной крышки – предкрышечная, крышечная, покрывная и межкрышечная; челюстные кости, окаймляющие рот; кости так называемого плечевого пояса; позвонки; жесткие лучи плавников (осетровые); а также косточки из слухового аппарата рыб, известные под названием отолитов или слуховых косточек (налим).

Широко распространен способ определения возраста рыб по отолитам, слуховым камушкам, находящимся в слуховой капсуле. Для извлечения отолитов из капсулы отрезают жабры от межжаберного промежутка и обнажают нижнюю сторону черепа, при этом обнаживаются обе слуховые капсулы с отолитами. Надрезав над ними тонкие кости, отолит вынимают пинцетом, стараясь не сдвинуть его вовнутрь черепа (тогда найти отолит будет трудно). Отолиты собирают в чешуйную книжку. Их надо брать у нефиксированной рыбы.

На отолитах ясно выражены годовые кольца, по которым и определяют возраст рыб. Крупные незамутненные отолиты можно просматривать без предварительной обработки, в случае замутненных отолитов иногда требуется приготовление шлифов.

Так же для лучшей видимости, отолит помещается в 25% аммиак (известный под названием нашатырного спирта), способствующий его обезжириванию. В аммиаке отолит выдерживается от 30 мин до 24 ч, но в большинстве случаев 4–5 ч. После такой обработки отолит промывается в горячей воде и затем рассматривается под лупой в капле глицерина.

**Вскрытие.** Для вскрытия рыбы взять ее в левую руку брюхом вверх и сделать ножницами разрез по брюшной стороне тела от анального отверстия к голове до самого рта. При этом надо нажимать ножницами снизу вверх, не запуская их концы вглубь, чтобы не повредить внутренние органы. Перерезать кости плечевого пояса, которые встретятся на пути разреза.

Под жаберной крышкой лежат четыре пары жаберных дуг. Позади них находится двухкамерное сердце. Впереди него заметно расширение брюшной аорты – луковица аорты, от которой берет начало брюшная аорта. Жаберная полость отделена от брюшной тонкой вертикальной перегородкой.

В переднем отделе брюшной полости находится хорошо выраженная печень, прикрывающая желудок. От желудка отходит кишечная трубка. Поджелудочная железа у большинства рыб бывает в дисперсном состоянии и расположена между желудком и прилегающей к нему петлей кишечника. В одной из петель кишечника находится темно-бордовая селезенка (рис. 2).

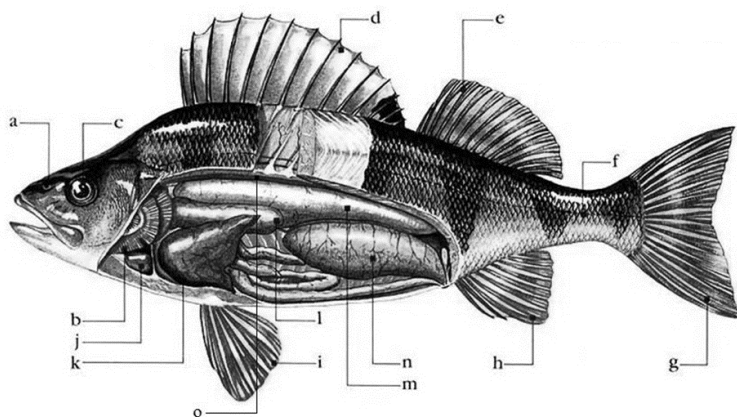




Рис. 2. Внешнее и внутреннее строение рыб

Примечание: а – назальный орган; b – жабры; с – глаз; d – колючий спинной (D<sub>1</sub> – дорсальный) плавник; e – мягкий спинной (D<sub>2</sub>) плавник; f – боковая линия; g – хвостовой (С – каудальный) плавник; h – анальный (А) плавник; i – брюшные (V – вентральный) плавники; j – сердце; k – печень; l – желудок; m – воздушный (плавательный) пузырь; n – яичник; o – почки.

В задней части полости тела лежат половые органы – семенники или яичники. Степень их развития зависит от времени добычи рыбы и ее возраста. Семенники отличаются молочно-кремовым цветом, вследствие чего их называют молоками. Яичники представлены вытянутыми мешками желтовато-оранжевого цвета с зернистой структурой (икра).

Глубже всех органов, под позвоночным столбом, лежит плавательный пузырь, который у пластинчатожаберных рыб отсутствует. Плавательный пузырь эмбрионально возникает как вырост спинной стенки кишечника. Сразу под позвоночником тянутся темно-красные почки. У костистых рыб также имеется мочевой пузырь.

В зависимости от вида рыбы морфологическое строение внутренних органов может иметь значительные структурные различия. Особенно это касается строения желудочно-кишечного тракта, в зависимости от типа питания может резко выделяться желудок (у хищников), длина кишечника у травоядных может достигать размеров в несколько раз длиннее тела рыбы, у лососеобразных в структуре есть пилорические придатки.

## 2. ПОЛНОЕ ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОЕ ВСКРЫТИЕ РЫБ

### 2.1. Общие положения

Для выявления паразитофауны рыб и оценки эпизоотической обстановки в естественных водоемах и рыбоводных хозяйствах проводят обследование методом полного паразитологического вскрытия. Этот метод, разработанный членом-корреспондентом АН СССР, проф. В.А. Догелем, был проверен на практике и дополнен его учениками и последователями (Быховская-Павловская, 1952; Бауер и др., 1981; Мусселиус и др., 1983; Евсеева, 2008 и др.). Метод позволяет обнаружить 80 % паразитов всех систематических групп. Для исследования отбирают живых или погибающих рыб всех возрастных категорий в следующих количествах: личинок и мальков – не менее 25 экз., сеголетков – 15–25, годовиков и всех рыб остальных возрастных групп – по 15 экз. Необходимость вскрытия такого количества рыб, при котором результаты исследования являются статистически достоверными, была обоснована Г.К. и М.Г. Петрушевскими (Петрушевский, Петрушевская, 1960).

В рыбоводных хозяйствах при регулярных обследованиях число вскрываемых рыб может быть сокращено до 10. Также можно использовать метод неполного паразитологического вскрытия для обнаружения паразитов определённых систематических групп. Эта методика отличается тем, что на зараженность паразитами просматриваются не все органы рыб, а один или несколько. При этом количество исследованных рыб определяется исследователем в зависимости от поставленной задачи, но обычно число исследованных рыб намного больше, чем при полном паразитологическом анализе (Бауер и др., 1981).

Результаты исследований вносят в рабочий журнал, где указывают дату, место вылова, пол, возраст, вес и длину рыбы (см. выше), данные паразитологического вскрытия с предварительным и окончательным определением вида найденных паразитов. Обездвиживание мелкой рыбы проводят путем разрушения спинного мозга с помощью препаровальной иглы, а крупной – перерезая ножницами позвоночник сразу за головой. Для обездвиживания рыбы можно использовать анестетики.

Перед началом паразитологического исследования необходимо измерить длину рыбы, вес и определяют возраст (методы описаны в первой части).

Приступая к исследованию рыб, необходимо иметь полный набор оборудования, инструментов и реактивов (приложение 1).

## 2.2. Порядок паразитологического исследования

**2.2.1.** Полное паразитологическое исследование рыб проводят в следующем порядке: внешний осмотр, 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.

**2.2.2.** Для внешнего осмотра рыбу кладут в кювету. С поверхности тела снимают видимых простым глазом пиявок, рачков, глохийдией. Чёрные пятна на теле карповых рыб могут свидетельствовать о наличии под кожей цист с личинками трематоды *Posthodiplostomum cuticola*. В чешуйных кармашках карпов всех возрастов паразитирует нематода *Philometroides lusiana*. Необходимо регистрировать в журнале все найденные патологические признаки (повреждения, язвы, опухоли, пятна, налёт, сильное ослизнение, отсутствие слизи на коже рыбы и т.д.).

**2.2.3.** 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 при этом видимых невооруженным глазом паразитов. Затем ткани и органы исследуют компрессионным методом под микроскопом МБС или ЛЮ-МО. Для этого ткань или орган переносят на стекло размером 9×12 см, делят на небольшие кусочки, продавливая предметным стеклом. Предметное стекло удобнее держать так, чтобы  $\frac{1}{3}$  или  $\frac{1}{4}$  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 (10×20) и большом (10×40) увеличении.

**2.2.4.** Подсчет количества крупных паразитов (рачков, гельминтов, глохийдией, цист микроспоридий) проводят в абсолютных числах, а мелких (инфузорий и других простейших) – в относительных. Для этого подсчитывают количество паразитов в десяти полях зрения микроскопа и определяют средний показатель. После завершения исследования всех рыб высчитывают экстенсивность и интенсивность инвазии, индекс обилия по каждому паразиту в отдельности для каждого вида и возраста рыб. Под экстенсивностью инвазии (т.е. процент заражения природной популяции) понимают число заражённых экземпляров от всех исследованных рыб. Расчёт процента заражения производят, если количество исследованных рыб превыша-

ет 10 экз. Средняя интенсивность инвазии определяется делением суммы найденных паразитов на число заражённых рыб; а индекс обилия – делением на общее число исследованных рыб, включая и незараженных (Симакова и др., 2016).

**2.2.5.** Обнаруженных паразитов необходимо фиксировать, этикетировать и сохранять для дальнейшей камеральной обработки с целью определения их видовой принадлежности.

### **2.3. Исследование кожного покрова, плавников, носовой и ротовой полостей**

**2.3.1.** При наружном осмотре кожного покрова и плавников рыб всех паразитов, видимых невооружённым глазом (цисты миксоспоридий, микроспоридий, глосидии, паразитические ракообразные, пиявки и др.), собирают, предварительно определяют и фиксируют. Затем скальпелем делают соскоб с поверхности тела и переносят на предметное стекло, добавляют каплю воды, накрывают покровным стеклом и просматривают вначале под микроскопом МБС для выявления простейших: триходин, хилодонелл, апиозом, ихтиофтириусов, гельминтов: моногеней и др., а затем при малом и большом увеличении микроскопа (видны более мелкие паразиты: костии, жгутиконосцы, споры микро- и миксоспоридий). У молоди рыб первого года жизни мазок слизи берут со всей поверхности тела, у годовиков и старших возрастных групп – с нескольких участков тела.

**2.3.2.** Плавники отрезают, кладут на стекло в капле воды и просматривают под микроскопом МБС, растягивая иголками. Между лучами могут быть цисты миксоспоридий, цисты рода *Dermocystidium*, метацеркарии трематод, паразитические раки, глосидии.

Далее делают соскоб и просматривают его так же, как и соскоб с поверхности тела.

В носовой полости рыб возможно нахождение паразитических простейших, рачков *Paraergasilus rylovi*, мелких моногеней. В носовые ямки крупных рыб пипеткой выпрыскивают 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 иголкой разорвать носовую перегородку и сделать несколько круговых движений внутри полости, подрезая и наматывая слизь на иглу. Комочки слизи исследуют под микроскопом на предметном стекле в капле воды.

**2.3.3.** В ротовой полости рыб можно обнаружить трематод (*Azygia lucia* при гибели щуки выходит из кишечника в ротовую полость), рачков, пия-

вок, моногеней, метацеркарий трематод, цисты микроспоридий и миксоспоридий, а также других простейших. Для нахождения последних необходимо сделать мазок и просмотреть его под микроскопом при малом и большом увеличении.

## 2.4. Исследование жабр

**2.4.1.** Вначале ножницами вырезают жаберную крышку и просматривают её с внутренней стороны, где могут находиться цисты микроспоридий и миксоспоридий, нематоды, моногеней, рачки.

**2.4.2.** Жаберные дуги вырезают, помещают в чашку Петри с физиологическим раствором по порядку, так как на разных жаберных дугах количество паразитов различно. Собирают видимых паразитов, их подсчитывают и фиксируют. Затем препаративными иглами перебирают жаберные лепестки под микроскопом МБС или ЛОМО для нахождения моногеней, цист микроспоридий и миксоспоридий, цист дермоцистидиум, личинок трематод, рачков и других паразитов. После этого делают соскоб с жаберных лепестков. Его помещают на предметное стекло с каплей воды, накрывают покровным стеклом и просматривают под микроскопом при малом и большом увеличении (видны простейшие, споры миксоспоридий, моногеней).

## 2.5. Исследование крови

Для обнаружения кровепаразитов кровь берут пастеровской пипеткой из сердца, жаберной или хвостовой артерии и делают мазки (Крылов, 1974). Для предотвращения свёртывания крови в тонкой части пипетки её необходимо промывать лимоннокислым натрием. Мазок делают тонким шлифованным стеклом. Для этого на край обезжиренного предметного стекла наносят каплю крови. Шлифованным стеклом касаются капли, которая растекается вдоль края стекла. После этого тянут кашпо сначала слегка назад и затем быстро продвигают вперёд, для того чтобы элементы крови растеклись в один слой. Сразу после высыхания мазка его фиксируют метанолом 1–2 мин либо в смеси 96° этилового спирта с эфиром (1:1). Мазки крови до окрашивания хранят вместе с этикетками сухими. В крови рыб могут паразитировать жгутиконосцы родов *Trypanosoma* и *Cryptobia*, а также вегетативные стадии миксоспоридий.

## 2.6. Исследование брюшной полости и внутренних органов

**2.6.1.** Рыбу следует класть головой к левой руке исследователя, чтобы

при её вскрытии не повредить мочевой пузырь. Сначала делают поперечный разрез тела в районе грудных плавников, куда вводят ножницы тупым концом, 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, держа ножницы почти параллельно мышцам. Затем, разрезая боковую часть тела рыбы, доводят ножницы до грудных плавников. Выделив мочевой и желчный пузыри, рыбу накрывают влажной марлей, чтобы она не подсыхала.

**2.6.2. Желчный пузырь.** 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. Накрывают мазок покровным стеклом и просматривают при малом и большом увеличении микроскопа (могут быть видны жгутиконосцы, споры и плазмодии миксоспоридий, метацеркарии трематод). Добавлять воду на предметное стекло не стоит, так как миксооспоридии при нарушении осмотического давления разрываются. Желчь также просматривают под микроскопом.

**2.6.3. Мочевой пузырь.** Для выделения мочевого пузыря необходимо пинцетом подцепить мочеточники, 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. После выделения мочевого пузыря разрезают и делают соскоб с внутренней стороны, просматривают при малом и большом увеличении микроскопа. Не следует добавлять в мазок воду. В мочевом пузыре рыб могут паразитировать миксооспоридии, трематоды, триходины. В мочеточниках встречаются трематоды рода *Phyllodistomum*.

**2.6.4. Вскрытую брюшную полость** (только после извлечения желчного и мочевого пузырей) осматривают, при обнаружении крупных паразитов (лигула, амфилина, цисты трематод и нематод) их извлекают и фиксируют для дальнейшего изучения. В брыжейке рыб можно найти метацеркарии трематод, личинок дифиллоботриумов. Затем из брюшной полости извлекают внутренние органы, раскладывают их в чашки Петри, содержащие небольшое количество физ. раствора.

**2.6.5. Почки** исследуют компрессионным методом, просматривают под микроскопом при малом увеличении МБС (видны метацеркарии трематод, цисты миксооспоридий), а при большом видны споры и плазмодии миксооспоридий, жгутиконосцы, триходины.

**2.6.6. Сердце.** На поверхности сердца рыб можно обнаружить личинок трематод и цестод, цисты миксооспоридий. Вскрывают полость сердца, со-

держимое синуса и желудка, а также стенку органа просматривают под микроскопом МБС компрессионным методом. В крови можно обнаружить трематод рода *Sanquinicola*.

**2.6.7. Пищеварительный тракт.** Следует разделить пищеварительный тракт на пищевод, желудок, кишечник и просматривать их отдельно. Каждый участок аккуратно разрезают вдоль и его содержимое просматривают компрессионным методом под микроскопом МБС. При этом извлекают всех червей, промывают и фиксируют спиртом между стёклами для дальнейшего изучения, определения. Затем скальпелем делают соскоб со слизистой кишечника и просматривают его под большим увеличением микроскопа (видны кокцидии, микоспоридии). Содержимое кишечника также просматривают под микроскопом для определения типа питания рыбы.

**2.6.8. Печень.** На поверхности и в толще печени рыб можно обнаружить цисты ленточных червей, личинок трематод, круглых червей. Печень исследуют компрессионным методом под микроскопом МБС.

**2.6.9. Селезёнку** исследуют компрессионным методом под МБС. В селезёнке рыб можно обнаружить метацеркарии трематод, личинки нематод, цисты микоспоридии.

**2.6.10. Гонады** исследуют компрессионным методом и просматривают под микроскопом МБС при малом и большом увеличении (видны цисты и споры миксо- и микроспоридий, полиподиумы, плероцеркоиды ленточных червей, метацеркарии трематод). Икринки осетровых рыб, заражённые полиподиумом, крупнее и темнее здоровых, а поражённые микроспоридиями рода *Scolecospira* – крупнее здоровых, грязновато-белого цвета. Содержимое заражённой микроспоридиями икринки представляет собой белую мутную жидкость.

**2.6.11. Плавательный пузырь** осматривают, разрезают и делают соскоб с внутренней поверхности, который просматривают под микроскопом МБС при малом и большом увеличении (видны микоспоридии, метацеркарии трематод, нематоды).

## 2.7. Исследование головного и спинного мозга

Для исследования головного и спинного мозга ножницами или скальпелем вскрывают черепную коробку, исследуют компрессионным методом под микроскопом для обнаружения в них цист микоспоридии, микроспоридий, метацеркарии трематод. Выделение спинного мозга удобнее всего производить, прорезав ножницами позвоночник возле хвостового плавника, затем пинцетом вытянуть спинной мозг из спинномозгового канала. Если он порвался, необходимо надломить хребет ниже места обрыва и попытаться вытянуть остаток спинного мозга.

## 2.8. Исследование хрящей

Для обнаружения миксоспоридии (*Myxosoma cerebralis*, *Myxobolus arcticus* и др.) – паразитов молоди первого года жизни лососевых рыб – компрессионным методом исследуют черепные и межпозвонковые хрящи. Для выделения спор необходимо мелко раскрошить (растереть в ступке) хрящи, залить водой и просмотреть вытяжку под микроскопом.

## 2.9. Исследование мышц

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 страницы (видны цисты миксоспоридии, личинки гельминтов). Затем небольшие куски мышц исследуют компрессионным методом под микроскопом МБС (видны личинки трематод, цестод, нематод, цисты микро- и миксоспоридий) при малом и большом увеличении микроскопа (видны споры микро- и миксоспоридий).

## 2.10. Исследование глаз

Из впадины извлекают глазное яблоко, кладут его в солонку и аккуратно разрезают. Извлекают хрусталик, стекловидное тело и содержимое передней камеры глаза и изучают отдельно на предметных стеклах, просматривая под микроскопом МБС. В хрусталиках рыб паразитируют метацеркарии трематод рода *Diplostomum*, в стекловидном теле – метацеркарии трематод, личинки нематод рода *Desmidacercella*, в глазной жидкости – миксоспоридии, 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 стаканчике объемом 0,2 л методом отмучивания и последовательных сливов. У живых метацеркарий подтверждают их принадлежность к роду *Diplostomum* и выявляют их морфологические особенности. Для этого собранных метацеркарий помещают на предметное стекло с лункой и исследуют под малым увеличением микроскопа, обращая основное внимание на форму их тела, количество и характер расположения известковых телец. По форме и размерам известковых телец метацеркарий рода *Diplostomum* дифференцируют от таковых рода *Tylodel-*



*phys* (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 этого рода. Известковые тельца отсутствуют у не достигших инвазионной стадии развития (чаще у молоди рыб) и утративших инвазионность метацеркарий (чаще у рыб старше пяти лет). Метацеркарий 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.

### **2.11. Обследование головы для выявления возбудителя вертежа**

При обследованиях форели особое внимание следует обращать на голову, где в области слуховых капсул локализуется возбудитель вертежа – микоспоридия *Mycosoma cerebralis*. Для обнаружения спор этого паразита ножницами измельчают голову, образующуюся массу обильно смачивают физиологическим раствором и просматривают под микроскопом при большом увеличении, помещая небольшие порции на предметное стекло.

## 3. МЕТОДЫ РАБОТЫ С ПАЗАРИТАМИ

### 3.1. Методы отбора паразитов

Обнаруженных паразитов на поверхности и в полости тела, в тканях и органах собирают тонкими пинцетами, препаровальными иглами, мягкой кисточкой или пипеткой и помещают в солонки с водой.

Мелких паразитов извлекают под микроскопом МБС.

Фиксировать паразитов надо только живыми, но предварительно выдержать в воде, отмыть от слизи. Способ фиксации зависит от принадлежности паразита и задач исследования.

**3.1.1. Моногены.** Помещенные на стекло для вскрытия жабер и плавники, обильно смачивают водой и просматривают под лупой или бинокулярным микроскопом. Обнаруженных моногеной осторожно снимают препаровальными иглами, пипеткой или тонким пинцетом с жаберных лепестков или с плавников и отодвигают на чистое место стекла. Крупных моногеной, таких как диплозоон, осторожно снимают препаровальными иглами и переносят в лабораторную солонку или заменяющий ее сосуд с водой. Мелких моногеной, например, дактилогиров, гиродактилусов и др., снимают с жабр препаровальными иглами и переносят в солонку с помощью пипетки. При переносе моногеной в солонку необходимо следить за тем, чтобы в нее попало как можно меньше слизи, т.к. это в дальнейшем затрудняет извлечение паразитов.

**3.1.2. Паразитические рачки.** Их снимают с поверхности тела, плавников и жабр с помощью препаровальных игл или тонкого пинцета. До момента фиксации паразитических рачков хранят в солонке с водой. Желательно, чтобы солонка была покрыта крышкой, т.к. некоторые паразитические рачки обладают значительной подвижностью и могут выползти.

**3.1.3. Кишечные паразиты.** Ленточных червей, трематод, круглых червей и скребней извлекают из содержимого кишечника и помещают в солонки или заменяющие их сосуды с чистой водой до момента фиксации. При извлечении ленточных червей необходимо следить за тем, чтобы была выделена головка паразита, которая часто глубоко внедряется в стенку кишечника. Иногда головка легко отделяется от стенки кишечника при легком потягивании за тело червя. Однако в некоторых случаях необходимо разрушить слизистую оболочку вокруг места прикрепления и только после этого выделить головку. При извлечении скребней также необходимо следить за тем, чтобы в стенке кишки не остался хоботок паразита. Это необходимо для дальнейшей правильной идентификации червей.

**3.1.4. Личинки трематод, ленточных червей.** Эти личинки, как правило, хорошо заметны невооруженным глазом и выделение их вместе с цистами из тканей и органов хозяина не представляет особого труда. Некоторые затруднения вызывает выделение личинок из цист. Наиболее просто освобождать от цист личинок ленточных и круглых червей. Для этого препаративными иглами разрушают стенку цисты и вынимают паразита (Бауер и др., 1981).

Наибольшие трудности встречаются при освобождении из цисты личинок трематод. Цисты трематод, как правило, имеют несколько оболочек. Наружная плотная оболочка довольно легко снимается с помощью препаративных игл. Внутренняя тонкая прозрачная оболочка обычно наполнена жидкостью, в которой находится паразит, и отделяется с трудом. Иногда эта оболочка бывает настолько тонкой и прозрачной, что ее не замечают, особенно начинающие исследователи. Однако отделение этой оболочки совершенно необходимо, т.к. в противном случае становится невозможным дальнейшая обработка и определение паразитов.

Существуют разные способы выделения из цист личинок трематод. Можно разрушить оболочку цисты остро заточенными препаративными иглами. Другой способ заключается в том, что цисту помещают под покровное стекло и, надавливая на него сверху препаративной иглой, выделяют паразита из цисты. Следующий способ – это поместить цисты в разогретый до 37° С раствор трипсина или медицинской желчи. Существует ряд других способов.

## **3.2. Методы фиксации паразитов**

**3.2.1. Мазки крови** помещают на предметное стекло, подсушивают на воздухе, фиксируют метанолом или смесью спирта и эфира (разведение 1:1) в течение 2–3 минут, снова подсушивают, этикетировывают и хранят в сухом виде в боксах для предметных стекол.

**3.2.2. Инфузорий** родов *Apiosoma*, *Scyphidia*, *Capriniana*, *Chillodone* и других фиксируют в жидкости Шаудина (приложение 2). 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 мин. После этого мазок промывают 70° спиртом и переносят на 3–5 мин в раствор йода, разведённый в 70° спирте до цвета крепкого чая (для удаления сулемы, входящей в состав фиксатора). После этого мазок промывают 70° спиртом – 5–10 минут для полного удаления йода, который нарушает структуру клеток. Мазки хранят в стаканчике с 70° спиртом до окрашивания ге-

матоксилином.

**3.2.3. 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. Если стёкол несколько, то между ними кладут кольца из бумаги по размеру стекла, чтобы мазки не соприкасались друг с другом.

**3.2.4. Жгутиконосцев** фиксируют в смеси: раствор Шаудина с ледяной уксусной кислотой. Для этого в 20 мл жидкости Шаудина капают 1 каплю кислоты (непосредственно перед использованием) и слегка нагревают смесь до появления паров. Влажный мазок опускают в часовое стекло с подогретой смесью на 2–5 минут. Далее его промывают в 70° спирте две минуты, затем переносят в раствор йода, разведённый в 70° спирте до цвета крепкого чая, на две минуты и промывают в 70° спирте. Хранить можно в стаканчике с 70° спиртом.

**3.2.5.** При обнаружении спор **микроспоридий** на предметное стекло капают жидкий глицерин-желатин (приложение 2) 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 глицерин-желатина и накрыть чистым покровным стеклом. А из покровного стекла со спорами сделать второй препарат (на чистое предметное стекло капнуть глицерин-желатин и накрыть покровным стеклом со спорами). Это необходимо для того, чтобы споры лежали в один слой. Живые споры микроспоридий, выделенные из цист или поражённой мускулатуры, длительное время сохраняют, обмазывая покровное стекло по периметру расплавленным глицерин-желатином. Другую часть материала фиксируют в 4% растворе формалина или 2,5% глютаральдегида для проведения гистологических и электронно-микроскопических исследований.

**3.2.6. Кокцидий** в мазке слизи на предметном стекле накрывают покровным стеклом, добавляют под него несколько капель 4% формалина или 2,5% глютаральдегида и обмазывают покровное стекло канадским бальзамом по периметру. Размер и структура ооцист сохраняются от 4 недель до 1 года.

**3.2.7. Микроспоридий** для электронно-микроскопических исследований вместе с небольшими кусочками ткани помещают в микропробирки с 2,5% глютаральдегидом на кокадилатном или фосфатном буфере для проведения электронно-микроскопического исследования. Из части спор и стадий развития микроспоридий изготавливают мазки таким же методом, как мазки крови (Воронин, Исси, 1974).

**3.2.8. Моногеней** родов *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus* и др. фиксируют жидким глицерин-желатином (Гусев, 1978, 1983). Для этого следует положить 2–3 червя с каплей воды на предметное стекло. Для расправления 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 глицерин-желатин и накрыть покровным стеклом. Покровные стёкла должны быть обезжиренными и тонкими. Класть стекло следует выпуклой стороной вниз, так как под вогнутой стороной образуется пузырьёк воздуха, а слой глицерин-желатина будет толстым. Глядя в микроскоп МБС, нужно давить иглой на покровное стекло, пока хитиноидные образования червей не станут хорошо видимыми. Далее следует проверить (под большим увеличением микроскопа), хорошо ли расправлены краевые крючья червя: если недостаточно, то, подогрев препарат снизу, нужно сильнее придавить иглой покровное стекло над объектом. Для длительного хранения препараты обмазывают по краю покровного стекла горячей смесью воска с канифолью (приложение 2), (либо бальзамом или асфальтовым лаком). Контроль работы следует вести под микроскопом МБС.

Изготовить постоянные препараты моногеней можно и с помощью пикриновокислого аммония. Для этого червей в небольшой капле воды помещают под покровное стекло и затем по краю покровного стекла наносят несколько капель пикриновокислого аммония, который постепенно проникает под покровное стекло и замещает воду.

Моногеней рода *Diplozoon* фиксируют методом, предложенным И.А. Хотеновским (1974). Для этого червей кладут на предметное стекло в капле воды, подогревают, накрывают покровным стеклом. Затем покровное стекло снимают, на него переносят червя, избыток воды удаляют. Покровное стекло с паразитом и с каплей фиксатора Ван-Клива опускают на 20–30 мин в чашку Петри. Фиксатор добавляют по мере испарения. Затем паразит переводится в пробирку с 70° спиртом до изготовления препарата. Для определения паразита до вида перед фиксацией у червя необходимо вырезать один задний отдел тела с клапанами, положить его на предметное стекло, капнуть жидкий глицерин-желатин и накрыть покровным стеклом так, чтобы были хорошо видны хитиноидные образования.

**3.2.9. 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, заполненную

70° спиртом. Для фиксации трематод можно использовать фиксатор Ван-Клива, который готовится заранее. Предметные стёкла с паразитами, накрытые покровными стёклами, помещают в чашку Петри с фиксатором Ван-Клива и закрывают крышкой. Фиксация считается законченной, когда черви станут непрозрачными. Затем паразитов переносят в пробирку с 70° спиртом и этикеткой.

Личинок трематод в основном фиксируют 70° спиртом между стеклами способом, описанным для взрослых трематод и ленточных червей.

Метацеркарий мелких трематод родов *Diplostomum*, *Cotylurus*, *Paracoenogomtus* и др. фиксируют и окрашивают одновременно. Фиксацию и окраску метацеркарий проводят уксусноокислым кармином (приложение 2) путем окраски живых метацеркарий в минимальном количестве воды в пробирке объемом 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 и дифференцируют подкисленным спиртом с тем, чтобы смыть лишнюю краску. Метацеркарий трематод можно хранить в 70° спирте для дальнейшей камеральной обработки.

Личинок глазных сосальщиков фиксируют следующим образом. Извлеченных из глаз метацеркариев фиксируют 95° спиртом в течение 5–10 мин., а затем, встряхивая, отмывают дистиллированной водой. Далее метацеркарий переносят в 0,5% раствор азотнокислого серебра и выставляют на яркий свет. На свету происходит окрашивание известковых телец (важного систематического признака) в бурый цвет, но еще не черный, что необходимо контролировать под микроскопом, серебрение следует прекратить и перенести паразитов в воду для промывки, которую необходимо менять до исчезновения помутнения. Отмытых червей помещают в 3% раствор гипосульфита на 3–5 мин, затем снова промывают водой и заключают в бальзам. Серебрённые препараты можно какое-то время хранить в 70° спирте.

**3.2.10. Ленточных червей** фиксируют так же, как трематод, но стекла, на которых проводится фиксация 70° спиртом, должны быть толще, а время фиксации дольше. Если черви крупные, то на стекло следует ставить грузик для большего уплощения червя.

**3.2.11. 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 (приложение 2).

Очень мелких нематод помещают в глицерин-желатин без предварительной фиксации.

**3.2.12. Скребней** фиксируют 70° спиртом между стеклами как трематод и цестод. Перед фиксацией особенно тщательно необходимо очистить хоботок от слизи и следить, чтобы он был хорошо вывернут для дальнейшей правильной идентификации. Для этого на покровное стекло ставят какой-либо груз. Из хоботков скребней можно изготовить глицерин-желатиновые препараты. Фиксация считается законченной, когда черви станут непрозрачными.

**3.2.13. Паразитических ракообразных и пиявок** фиксируют 70° спиртом или 4% формалином в небольшой пробирке, где они в последующем хранятся с этикеткой.

**3.2.14. Глохидий** фиксируют 70° спиртом или на месте изготавливают глицерин-желатиновые препараты. Перед изготовлением препаратов их выдерживают в течение нескольких часов в воде (в это время они погибают и их створки раскрываются). При заключении глохидиев в глицерин-желатин следует помнить, что створки их раковин очень нежные, и их можно легко раздавить, поэтому по углам покровного стекла желательно делать по-больше «ножек» из воска.

**3.2.15. Хранение фиксированных препаратов.** Фиксированных паразитов помещают в пробирки в зависимости от размеров паразитов. В пробирку вкладывают этикетку, написанную простым карандашом на пергаменте или кальке. В этикетке должны быть указаны следующие данные: номер рыбы, систематическая принадлежность рыбы, локализация паразита, название паразита, место сбора и дата. Этикетку в пробирке помещают так, чтобы ее можно было прочесть, не вынимая. Затем пробирку плотно закрывают и помещают в стеклянный сосуд, где пробирки устанавливают рядами в несколько ярусов. Сосуд с пробирками заполняется 70° спиртом (Бауэр и др., 1981). При хранении паразитов необходимо следить, чтобы фиксирующей жидкости было в 10 раз больше объема паразита.

**3.2.16. Измерение паразитов с помощью окуляр-микрометра.** Большое внимание при паразитологическом исследовании следует уделять изучению не только фиксированных паразитов, но и живых сразу после извлечения в капле воды под покровным стеклом. При определении паразитов часто приходится делать измерения. Если нет возможности воспользоваться фотонасадкой и программным обеспечением для фотографирования и измерения паразитов, используется окуляр-микрометр – линейка, нанесенная на небольшое круглое стекло, вставляемое в окуляр. Применяя окуляр-микрометр, необходимо точно знать цену его делений. Поскольку она будет меняться в зависимости от используемого объектива, окуляра и длины тубуса микроскопа, необходимо провести расчет увеличения микроскопа для всех его окуляров и объективов. Расчет производят с помощью объект-микрометра, представ-

ляющего собой предметное стекло с нанесенной на ним шкалой, каждое деление которой равно 0,01 мм. Положив объект-микрометр на столик микроскопа, наводят на фокус его линейку. Затем вставляют окуляр-микрометр в окуляр и совмещают черточки каких-либо крайних делений на окуляр и объект-микрометрах и подсчитывают количество делений окуляр-микрометра, которые укладываются в целое число делений объект-микрометра. Зная, что одно деление объекта-микрометра равно 0,01 мм, нетрудно высчитать чему равно одно деление окуляр-микрометра при данном увеличении. Например, если 2 деления объект-микрометра укладываются в 12 делений окуляр-микрометра, то одно деление окуляр-микрометра равно  $2 \times 0,01 / 12 = 0,00166$  мм = 1,6 мкм (Бауэр и др., 1981).

При проведении паразитологических исследований необходимо ведение дневника, в который должны быть включены следующие графы: номер изолята; дату и место сбора; название рыбы; пол, возраст, длину и массу рыбы. В графе «Примечания» следует приводить данные, которые могут в дальнейшем облегчить идентификацию паразита.

### **3.3. Методы окрашивания паразитов**

**3.3.1. Мазки крови и микроспоридий** окрашивают азур-зоином (краситель Романовского-Гимза) или метиленовой синью. Имеющуюся в продаже краску Романовского-Гимза перед окраской разводят дистиллированной водой по расчету 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 1% метиленовой сини перед употреблением разводят дистиллированной водой в соотношении 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 – в ярко-голубой, ядра лейкоцитов – в фиолетовый цвет.

**3.3.2.** 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 или слабым раствором пикриновой кислоты. Также инфузории можно окрашивать гематоксилином Делафильда или квасцовым кармином.

**3.3.3. Паразитических жгутиконосцев** окрашивают железным ге-



матоксилином или по методу Романовского-Гимза.

**3.3.4. 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 на 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. Необходимо следить, чтобы на препаратах не оставались следы серебра (иначе препарат со временем почернеет), а оставшиеся следы гипосульфита не обесцветили препарат.

**3.3.5.** Для изучения ультраструктуры **мико- и миксоспоридий** и правильной идентификации используют электронно-микроскопические методы исследования. Для электронной микроскопии зараженные ткани или кусочки кист фиксируют 2,5–24 ч при +4°C 2,5% глутаровым альдегидом на 0,1 М какодилатном буферном растворе (pH 7,4) (Larsson, 2005). Затем промывают 0,2 М какодилатным буферным раствором (pH 7,4) 15 мин при комнатной температуре дважды; постфиксируют в 1 % OsO<sub>4</sub> в 0,1 М какодилатном буферном растворе (pH 7,4) 2 ч при комнатной температуре. После промывки дистиллированной водой 15 мин дважды, препараты обезживают в серии растворов этанола возрастающей концентрации и абсолютном ацетоне и заключают в эпон-аралдит (Уикли, 1975; Undeen, Vavra, 1997).

Ультратонкие срезы толщиной 60–100 нм готовят на ультратоме. Срезы контрастируют 2% раствором уранилацетата на 50% этаноле и цитратом свинца (по: Reynolds, 1963).

**3.3.6. 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 кармин от одной минуты до нескольких часов в зависимости от толщины гельминта. Окрашенных паразитов промывают в дистиллированной воде несколько минут и далее переносят в подкисленный спирт (к 100 см<sup>3</sup> 70° спирта добавляют 10 капель дымящейся соляной кислоты) для дифференцировки, проверяя степень их окраски под микроскопом МБС. Излишки жидкости убирают фильтровальной бумагой, червей 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 *Diplostomum*, *Cotylurus* проводят через спирты возрастающей крепости (85° и два раза 96° этиловый спирт) и просветляют ди-

метилфталатом (диметиловый эфир фталевой кислоты). Диметилфталат вносят в пробирку пипеткой, медленно выпуская его по стенке пробирки в спирт. Метацеркарий 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 – жидкую и густую. Вначале на предметное стекло стеклянной палочкой наносят рядами 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 маркером пишут буквы, а по вертикали – цифры под каждым паразитом.

Цестод, так же как и 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.

**3.3.7.** Временные препараты из **скребней и нематод** не окрашивают, а помещают в неразведенную молочную кислоту или лактофенольный раствор, 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. **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, заливают бальзамом и накрывают покровным стеклом.

**3.3.8.** **Ракообразных** выдерживают 12 часов в смеси 3 капель воды и 1 капли глицерина, затем 12 часов в смеси 2 капель воды и 2 капель глицерина, ещё 12 часов в смеси 1 капли воды и 3 капель глицерина. Это необходимо для того, чтобы рачки не сморщивались. На предметном стекле рачка расправляют, капают жидкий глицерин-желатин и накрывают покровным стеклом. Если рачок крупный, то на концах покровного стекла делают парафиновые ножки.

Для изготовления постоянных препаратов из ракообразных имеется

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 иглой. Каплю накрывают покровным стеклом. Препарат нагревают над спиртовкой, пока не расплавится парафин. Рачок оказывается в капле глицерина, защищенный парафином.

**3.3.9.** Из **глохидий** делают глицерин-желатиновые препараты, но при этом по углам покровного стекла ставят парафиновые ножки, чтобы не разрушились створки. Отбирают как раскрытые, так и закрытые створки паразитов. Перед изготовлением препаратов глохидиев выдерживают несколько часов в воде. За этот срок они погибают и их створки раскрываются. У закрытых створок измеряют размеры.

## 4. МЕТОДЫ РАБОТЫ С ЛИЧИНОЧНЫМИ СТАДИЯМИ КОШАЧЬЕЙ ДВУУСТКИ

### 4.1. Методы исследования первого промежуточного хозяина – битинийд на зараженность кошачьей двуусткой

**4.1.1. Особенности экологии и биологии первых промежуточных хозяев *O. felineus*.** Первым промежуточным хозяином гельминта является моллюск из подкласса переднежаберных, семейства Bithyniidae род *Bithynia (Codiella)*. В настоящее время установлено, что роль специфического промежуточного хозяина кошачьей двуустки, на незначительной части территории Прибалтики выполняет *B. leachi*, в Европе и Западной Сибири – *B. inflata* и *B. troscheli*. По последним данным моллюск *B. sibirica* не восприимчив к *Opisthorchis felineus* (Бер, 2005).

У моллюсков этой группы раковина овально-коническая, с острым завитком, тонко исчерченная, рогово-желтая, с 4–5 оборотами, выпуклыми, расположенными ступенькообразно и разделенными глубоким швом. Устье и крышечка округло-овальные, без угла вверх. Пупок отчетливый. Высота раковины от 5 до 15 мм, ширина – 4–8 мм.

Часто совместно с *B. inflata* в биотопах встречаются другие виды переднежаберных моллюсков (имеющих крышечку, запирающую устье раковины, прежде всего внешне похожий на них вид, не являющийся промежуточным хозяином описторха). Основные морфологические различия этих видов в том, что битиния инфлята имеет раковину с пупком, т.е. узкую щель между краем устья раковины и оборотом. Раковину можно "насадить на иголку". Обороты раковины выпуклые, расположены ступенькообразно, резко очерчены. У битиний инфлята высота завитка не превышает, либо незначительно превышает высоту устья (не более чем в 1,1 раза); у молодых особей (высота раковины до 5 мм) высота устья больше высоты завитка. Моллюски других семейств переднежаберных хорошо отличаются от битиний по раковине.

Моллюски битинии – обычные компоненты пресноводных биоценозов. Селятся они в прибрежных зонах небольших, с медленным течением рек, заливов и протоков, но основные биотопы битиний, как правило, пересыхающие (полностью или частично) пойменные эвтрофные водоемы, заливаемые во время весенних паводков. Моллюскам битиния инфлята свойственно образовывать скопления на небольших участках внутри биотопов. В местах таких скоплений плотность их может достигать 300–500 и более экз/м<sup>2</sup>, в то время как в других участ-

ках водоемов их меньше, либо вовсе нет. В скоплениях может быть сосредоточено до 85% особей популяции.

Визуальные признаки водоемов, где нахождение битиний вероятно (но не обязательно): мелкие, хорошо прогреваемые, богатые высшей водной растительностью (осоки, стрелолист, частуха, кубышка, кувшинка, рдесты, ирисы, уруть, элодея, роголист) и имеющие умеренно илистые донные грунты – пойменные озера с чистой, без запаха аммиака и сероводорода, водой. Часто благоприятными для обитания битиний оказываются маленькие водоемы (60–150 м<sup>2</sup>).

В поймах рек встречается большое число водоемов, потенциально пригодных для обитания битиний, но по тем или иным причинам не заселенных, поэтому точные сведения о наличии или же отсутствии битиний в конкретном водоеме (или системе сообщающихся водоемов) могут быть получены только при их обследовании.

Наилучшим временем суток для поиска и обора моллюсков являются дневные часы (с 11 до 16 ч). Благоприятствует сбору тихая солнечная погода, когда моллюски активны и находятся на веточках водных растений или на поверхности погруженных в воду предметов (кусках древесины, промышленных и бытовых отходах и т.д.) (Безр, 2005).

Битинии – относительные долгожители. В природных популяциях можно встретить 5–6-летних моллюсков, однако, основной костяк популяции составляют 3–4-летние особи. Они активны летом, зиму же и частично осенне-весенний период переживают в состоянии анабиоза в иле, под слоем растительного опада, во впадинах микрорельефа на дне водоемов. Весной становятся активными при температуре воды 8–12°С, в конце лета и осенью они заносятся илом или перегнивающей растительностью (существует мнение, что они могут зарываться в ил на глубину 5–6 см). Весной и в начале лета моллюски откладывают икру на веточках водных растений. Число яиц в кладке варьирует от 8–10 до 24–30. Продолжительность развития зародышей в кладках при температуре 15–18°С составляет 18–20 дней.

Битинии – активные "скоблильщики", питаются они в основном мелким детритом на листьях и стеблях водных растений. Сроки активности битиний в Западной Сибири приблизительно с конца мая до середины августа. На сроки активности моллюсков большое влияние оказывает ряд факторов: температурный режим, уровень воды в водоемах и продолжительность паводков, количество растворенного кислорода, содержание ионов железа, нитритов, нитратов, хлоридов, аммония, концентрация сероводорода и аммиака. Резко укорачивают пе-

риод их активной жизни затяжные паводки при низкой температуре воды в мае-июне, что часто наблюдается в условиях Западной Сибири. Поиск битиний в период, когда они неактивны, крайне затруднен, требует специального оборудования и, как правило, не дает желаемых результатов.

Присутствие битиний в одних и тех же биотопах (в многолетней динамике) довольно обычное явление, однако плотность популяций из года в год может заметно колебаться (от единиц до сотен на 1 м<sup>2</sup>). По-видимому, это связано с динамикой гидрорежима водоемов, а также с рядом биотических факторов, регулирующих численность (наличие животных-бентофагов, беспозвоночных конкурентов, с эпизоотиями среди моллюсков бактериальной и вирусной этиологии) (Беэр, 2005).

**4.1.2. Определение возраста битиний.** Для выявления возрастной динамики зараженности моллюсков личинками описторхов необходимо научиться определять их возраст. Определить возраст моллюсков можно прямым подсчетом валиков и колец нарастания на раковине и крышечке. Признаки "годовые кольца на крышечке" (ГК) и "годовые валики на раковине" (ГВ) не всегда надежны при определении возраста. Граница между кольцами на крышечке благодаря большой подвижности последней часто стирается, и более надежно определить возраст моллюска можно, подсчитав годовые валики на раковине. Подсчет ГВ и ГК производится под микроскопом МБС при малом увеличении.

При определении инвазированности моллюсков нет необходимости устанавливать возраст каждой особи, достаточно их сгруппировать по размерным классам, каждому из которых будут соответствовать особи определенных возрастных групп:

<b>Размерные группы моллюсков по высоте раковины, мм</b>	<b>Возраст моллюсков</b>
До 3	Сеголетки
От 3 до 8	2, 3 годовые
Свыше 8	4, 5, 6 годовые

**4.1.3. Методы исследования битиний на зараженность церкариями.** При обследовании битиний компрессионным способом препаративной иглой отделяют 2–3 первых оборота раковины (верхушку раковины), извлекают пищеварительную железу ("печень"), помещают ее на предметное стекло в каплю воды, покрывают покровным стеклом, слегка раздавливают и микроскопируют под микроскопом МБС при увеличении 16–20× или световым микроскопом при малом увеличе-

нии. При этом в гепатопанкреасе инвазированного моллюска будут отчетливо видны сотни (часто тысячи) подвижных личинок-церкарий. Для ускорения просмотра способ диагностики может быть упрощен, при этом "печень" не извлекают из верхушки раковины, а раздавливают ее покровным стеклом вместе с раковинной. Осколки не мешают обнаружению церкарий. На предметное стекло помещают одновременно 4 препарата (верхушки раковин от 4 моллюсков), располагая их последовательно на плоскости стекла и накрывая 4 покровными стеклами.

Экстенсивность инвазий битиний личинками описторха в очаге описторхоза, как правило, низкая (редко превышает 10%, а часто оказывается значительно ниже – 0,5–3%). Вследствие этого для получения достоверных данных о пораженности моллюсков исследуют не менее 100 битиний из каждого биоотопа (Беэр, 2005).

Кроме компрессионного метода, можно применять метод прижизненной диагностики. Он основан на наличии у церкарий описторха положительного фототаксиса. Этот метод проще, но менее точен. Исследуемых живых моллюсков поштучно помещают в микроаквариум (боксы малого размера; ячейки прозрачных пластмассовых пластин с микроемкостями 3–5 мл), заливают водой и выставляют под прямой солнечный свет или электролампу в 100 Вт на расстоянии 30 см на 50–60 мин. После световой экспозиции микроаквариума (не извлекая из них моллюсков) просматривают под 16-кратным увеличением микроскопа МБС. В них будут отчетливо видны вышедшие из моллюсков и активно плавающие церкарии (Беэр, 2005).

## **4.2. Методы исследования второго промежуточного хозяина – карповых рыб на зараженность метацеркариями**

**4.2.1. Исследование мускулатуры рыб на зараженность метацеркариями.** В мускулатуре рыб паразитируют метацеркарии трематод, патогенные и непатогенные для человека и животных. Патогенные для человека и животных метацеркарии (описторхисы, меторхисы, клонорхисы, псевдамфистомы) находятся в цистах, характерно наличие у них двух присосок и черного экскреторного пузыря овальной или грушевидной формы, занимающего  $\frac{1}{3}$  или  $\frac{1}{4}$  тела личинки. В цистах личинки активно подвижны. Непатогенные метацеркарии – личинки из рода буцефал и рипидокотил. У них имеется одна крупная присоска с пальцеобразными выступами, экскреторный пузырь зигзагообразной формы занимает до  $\frac{2}{3}$  тела, они слабо подвижны в цистах. Для метацеркариев параценогонимусов характерна более черная экс-

клеточная система с тремя белыми щелевидными просветами (Бочарова, 2007).

Носителями метацеркарий описторхид являются карповые рыбы. Наибольшее эпидемиологическое значение в Западной Сибири имеют язь, елец, в меньшей степени плотва и другие (Бочарова и др., 2007).

Для получения объективной эпидемиологической характеристики водоема по описторхозу необходимо исследовать не менее 25 экз. каждого вида рыб промыслового размера. При исследовании молоди эта цифра должна быть увеличена в 2–3 раза. Для выявления зараженности рыб метацеркариями применяют компрессионный метод или метод переваривания в искусственном желудочном соке (Безр, 2005).

#### **Компрессионный метод.**

Основным местом локализации метацеркарий описторхов служит подкожный слой мышц, в котором обычно размещается 60–95% всех имеющихся в рыбе личинок. Неравномерно распределение личинок и по длине тела. У молодых рыб (до 1 года) метацеркарии концентрируются в хвостовом стебле. У старших возрастов в средней частях спины локализуется до 45% метацеркарий. Используя эту особенность можно исследовать не все мышцы рыб, а лишь участки наибольшей концентрации личинок (рис. 3).

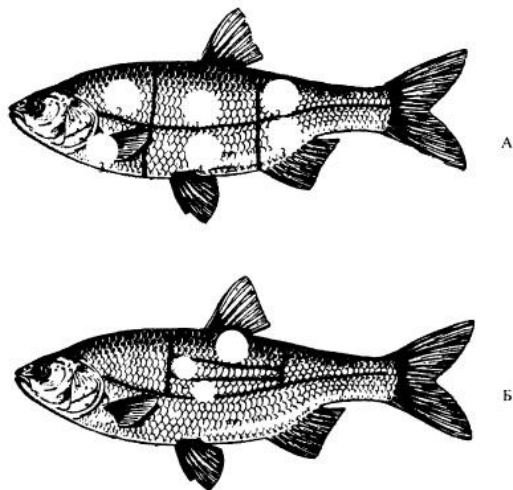


Рис. 3. Количество метацеркарий *O. felineus* в различных участках тела рыбы (по Звягиной В.В., 1995)

Примечание: А – примерное соотношение (в %) обнаруживаемых метацеркарий: 1 – 45%, 2 – 20%, 3 – 10%, 4 – 5% (по Безру, неопубликованные данные); Б – участки тела рыбы, содержащие различное число метацеркарий, от максимального (1) до минимального (3).



Подлежащую исследованию рыбу определяют до вида, измеряют ее длину, устанавливают возраст по чешуе (либо берут пробу чешуи для определения возраста впоследствии). Все данные заносят в журнал. Затем, освободив от чешуи среднюю часть тела рыбы, скальпелем подрезают кожу по средней линии спины, а двумя вертикальными надрезами от первого разреза до боковой линии оконтуривают участок средней трети спины. Удалив с нее кожу, острым скальпелем срезают слой мышц толщиной 2–3 мм и просматривают в компрессории с помощью микроскопа МБС под увеличением 15–20× (Беэр, 2005).

Использование стандартных компрессорных стекол с винтовыми зажимами нецелесообразно, т.к. отнимает много времени. Более удобны компрессорные стекла из обычного оконного стекла. Нижнее размером примерно 10×15 см, верхнее – стандартное предметное стекло.

Приготовленный срез помещают в верхней части нижнего стекла. Углом стекла отсекают от него небольшие кусочки мышц и плотно сдавив их между стеклами, микроскопируют. При подсыхании их следует увлажнять водой или физиологическим раствором из пипетки или шприца. В случае отсутствия личинок трематод в первом срезе следует просмотреть мышцы с аналогичного участка другой стороны тела, при отрицательном результате – подкожные мышцы спины с участка, расположенного ближе к голове, а затем с остальных участков.

Молодь рыб длиной до 20–25 мм можно компрессировать целиком. Более крупных сеголеток нужно расплатать на две половинки и просматривать в компрессории со стороны разреза, не снимая кожи и не освобождая от чешуи.

Вяленую, соленую, копченую рыбу предварительно вымачивают в воде до размягчения мышц (Беэр, 2005).

#### **Метод переваривания мышц в искусственном желудочном соке.**

Компрессионный способ исследования мышц карповых рыб для отыскания метацеркарий кошачьей двуустки очень трудоемок и поэтому в процессе работы необходимо освоить метод переваривания мышц в искусственном желудочном соке. Для этого мышечную ткань рыб с подкожной жировой клетчаткой отделяют от костей и тщательно измельчают ножом или перемалывают в мясорубке. Навески по 10 г помещают в чашки с плоским дном и заливают в соотношении 1:10 искусственным желудочным соком (приложение 2). Банки с навесками помещают на 3 ч в термостат при температуре 36–37° С, после чего их содержимое фильтруют в стеклянные цилиндры через фильтр с размером ячеек 1×1 мм, через 15–20 мин верхний слой желудочного сока с

переваренной мышечной тканью сливают, а осевших личинок переносят в чашку Петри или часовое стекло, где подсчитывают под микроскопом МБС при увеличении 15–20×. Для лучшего подсчета личинок в чашку Петри наливают физиологический раствор, делают несколько круговых движений, в результате которых метацеркарии концентрируются в центре чашки, а излишки физиологического раствора с остатками мышечной ткани удаляют пипеткой. Этот метод позволяет извлечь из мышц до 98% метацеркарий.

При просмотре крупных рыб (массой 1 кг и более) можно исследовать часть «фарша» с последующим пересчетом на все мышцы рыбы, выделенных из навески метацеркарий.

Метацеркарии, собранные после переваривания свежих мышц, остаются жизнеспособными и могут быть использованы для экспериментов по заражению животных.

После приобретения определенного опыта большую часть метацеркарий кошачьей двуустки удается идентифицировать непосредственно в компрессории мышц. В случае сомнения их извлекают препаративными иглами, помещают на обычное предметное стекло в каплю воды и, накрыв покровным стеклом, микроскопируют. Для микроманипуляций с личинками нужны очень тонкие препаративные иглы, которыми можно разорвать оболочку цисты и извлечь из нее личинку. Выбирать метацеркарий удобней с маленькими кусочками мышц, что облегчит дальнейшую работу с ними (Безр, 2005).

#### **4.2.2. Определение жизнеспособности метацеркарий.**

**А)** Для определения жизнеспособности личинок трематод извлекают из органов и тканей рыб, помещают в подогретый до 40° С физиологический раствор, в искусственный желудочный сок (приложение 2), под лупой осторожно раздражают личинку препаративной иглой. Наличие даже слабых движений указывает на то, что они живые.

**Б)** Личинок, извлеченных из органов и тканей рыб, освобождают от излишков ткани, кладут на стекло и окрашивают. На препарат наносят 2 капли 3%-ного раствора розоловой кислоты на 70%-ном спирте на 2 мин, добавляют каплю 0,1%-ного раствора едкого калия и еще оставляют на 2 мин. Излишки краски смывают физиологическим раствором, препарат высушивают полоской фильтровальной бумаги, накрывают покровным стеклом и просматривают под микроскопом. Мышечная ткань и мертвые личинки окрашиваются в розовый цвет, живые личинки не окрашиваются.

**В)** Жизнеспособность личинок можно определить под микроскопом с подогревательным столиком при 36–37° С. Выделенных личинок переносят на столик, добавляют 2–3 капли желчи или 0,5%-ного рас-

твора трипсина. Живые личинки через 5–10 мин выходят из цист. Можно также поместить личинку в каплю физиологического раствора и под контролем микроскопа освободить ее от наружной оболочки с помощью препаровальной иглы. Наличие движений у личинки указывает на ее жизнеспособность.

**4.2.3. Методы для идентификации вида метацеркария.** Иногда бывают значительные затруднения с правильным определением паразита по метацеркариям. В этом случае прибегают к разным методам исследования. Если трудно установить вид метацеркария, то личинку освобождают от оболочек механическим или химическим путем, после чего идентифицируют по морфологическим признакам личинки. Механически оболочку разрывают препаровальными иглами под контролем микроскопа МБС. Химическим – в искусственном желудочном соке (приложение 2). Для освобождения от внутренней оболочки цисты помещают в теплый 22–24°C раствор трипсина и поваренной соли (на 100 мл 1%-ного раствора NaCl берут 1 г трипсина). Метацеркарии трематод, освобожденные от оболочек, имеют характерные признаки, что служит критерием их видовой принадлежности (Бочарова, 2007).

Для установления видовой принадлежности личинок, особенно из сем. *Opisthorchidae*, патогенных для человека и животных, нередко прибегают к методу постановки биопробы. Для этого подопытным животным (морским свинкам, хомякам) скармливают мясо рыб с метацеркариями трематод или мелкую рыбу. Содержат их в клетках. Вид личинки определяют через 3–4 недели путем обнаружения в фекалиях животных яиц трематод или половозрелых гельминтов в печени, желчном пузыре, кишечнике (в зависимости от вида гельминтов) при вскрытии подопытных животных.

## **Приложение 1. Необходимое оборудование и реактивы**

### **1.1. Оптика:**

Микроскоп биологический стереоскопический МБС-1, МБС-9, МБС-10

Микроскоп биологический с бинокулярной насадкой, с окулярами 10, 15 и объективами 5, 10, 20, 40 и 90 или 100.

Окуляр-микрометр, объект-микрометр.

Осветители.

Фотоаппарат.

### **1.2. Инструменты:**

Ножницы разного размера прямые и изогнутые.

Скальпели разного размера.

Пинцеты разного размера хирургические и анатомические.

Препаровальные иглы разной толщины.

Пипетки медицинские и с оттянутыми концами (пастеровские).

Шприцы разного объема.

Линейка и штангенциркуль.

Весы.

### **1.3. Стёкла и посуда**

Стёкла размером 9×12 см – 10–20 шт.

Предметные стёкла (7,5×2,5 см) – 100 шт.

Обезжиренные предметные стёкла для мазков крови.

Шлифованное стекло.

Покровные стёкла (18×18 или 24×24 мм).

Часовые стёкла.

Чашки Петри.

Пробирки высотой 40 или 60 мм.

Пробирки 1,5 мл с завинчивающимися крышками.

Крупные пробирки.

Материальные банки с притёртыми пробками или резиновыми прокладками.

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 трихинами.

Мерные цилиндры.

Воронки.

Кристаллизаторы.

Спиртовка.

Эмалированные кюветы для вскрытия рыб.

Ёмкости для воды и перевозки рыбы.

Компрессоры для аэрации воды.

#### **1.4. Вспомогательные материалы**

Тетрадь или блокнот для записей.

Карандаши мягкие и твёрдые.

Водостойкие маркеры.

Бумага для упаковки препаратов.

Стикеры для этикеток.

Бумага фильтровальная.

Вата гигроскопическая для пробок и уплотнения пробирок в материальной банке.

Полотенца для рук, тряпки, марля.

Мыло или стиральный порошок.

Лейкопластырь или клейкая лента для упаковки препаратов.

Халат.

Клеёнка.

#### **1.5. Реактивы**

Азотнокислое серебро – 1% раствор, хранящийся в тёмном флаконе.

Бальзам канадский.

Гематоксилин Гейденгайна, Майера, Делафильда.

Гипосульфит 3%.

Глицерин-желатин.

Глютаровый альдегид 2,5% на какодилатном буфере.  
Дистиллированная вода.  
Желчь медицинская.  
Жидкость Барбагалпо – 50 мл.  
Жидкость Буэна.  
Жидкость Шаудина – 20 мл.  
Иммерсионное или вазелиновое масло.  
Канифольная замазка.  
Квасцовый кармин.  
Ксилол или гвоздичное масло.  
Лимоннокислый натрий.  
Метиловый спирт или смесь 96° спирта и эфира.  
Насыщенный раствор сулемы.  
Парафин.  
Пепсин.  
Пикриновый аммоний.  
Подкисленный спирт – 100 мл (на 100 мл 70° этилового спирта 1 мл концентрированной соляной кислоты).  
Раствор Романовского-Гимза.  
Реактив Ван-Клива – 100 мл.  
Спирт 96°, 80°, 70°.  
Спиртовой раствор йода – 20 мл.  
Трипсин.  
Уксуснокислый кармин – 100 мл.  
Формальдегид 4 %.  
Физиологический раствор.  
Хлористый натрий (поваренная соль) – 50–100 мл.

## Приложение 2. 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 химически 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 всегда нужно держать закрытой, чтобы туда не попала пыль. Не следует использовать корковые пробки.

**Железный гематоксилин Генденгайна.** 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 растворяют в 1 л дистиллированной воды с последующим добавлением 3 мл формалина.

**Жидкость Буэна.** Готовят насыщенный раствор пикриновой кислоты. Для этого 25–30 г порошка пикриновой кислоты растворяют в 1 л воды и доводят до кипения. После охлаждения излишки пикриновой кислоты выпадают в осадок. К 15 частям насыщенного раствора пикриновой кислоты добавляют 5 частей формалина. Перед употреблением в смесь добавляют 1

часть раствора ледяной уксусной кислоты.

**Жидкость Шаудина.** Для приготовления жидкости Шаудина необходимо иметь насыщенный раствор сулемы и 96° или абсолютный спирт. Для приготовления насыщенного раствора сулемы 35 г порошка 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 следует в посуде с притёртой пробкой в темноте. Обращаться с фиксатором нужно осторожно, так как сулема является сильным ядом. Также необходимо следить за тем, чтобы фиксатор не попадал на металлические, особенно алюминиевые, части приборов и оборудования, так как при соприкосновении с сулемой они разрушаются.

**Искусственный желудочный сок** 100 мл 0,5%-ного раствора NaCl, 0,5 г пепсина, 0,75 мл 35%-ного раствора соляной кислоты (либо 11 мл концентрированной соляной кислоты, 7 г пепсина, 9 г поваренной соли на 1 л воды).

**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. Обведённый препарат также следует подогреть для равномерного распределения замазки.

**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 для предохранения от плесени.

**Лактофенольный раствор.** Этот 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.

**Раствор Романовского-Гимза.** Готовят два раствора – 1 г азура растворяют в 1 л прокипяченной 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 используются спирты различной крепости. Их изготавливают из 96° спирта. Для получения 70° спирта к 100 мл исходного спирта нужно прибавить 35 мл дистиллированной воды. Для получения 80° спирта к 100 мл исходного спирта нужно прибавить 20,9 мл дистиллированной воды.

100° спирт (абсолютный). Для приготовления абсолютного спирта в 96° спирт добавляют обезвоженный (прокалённый) порошок 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 притертой пробкой примерно на  $\frac{1}{4}$  объёма, доливают доверху 96° спиртом и взбалтывают. Через 2–3 дня абсолютный спирт готов к употреблению.

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

**Физиологический раствор.** Для холоднокровных животных используется раствор 0,65 г поваренной соли в 100 мл дистиллированной воды.

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

**Формалин.** 40 % раствор формальдегида. Для получения 4% формальдегида к 9 частям воды добавляют 1 часть формалина. Для получения 10% формальдегида к 1 части формалина добавляют 3 части воды.

## Литература

1. *Бауер О.Н., Муссенвус В.А., Стрелков Ю.А.* Болезни прудовых рыб. М.: Лёгкая и пищевая пром-сть, 1981. 320 с.
2. *Безр С.А.* Биология возбудителя описторхоза. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005. 336 с.
3. *Бочарова Т.А.* Возбудитель описторхоза и другие мышечные паразиты карповых рыб бассейна нижней Томи. Томск: Изд-во Томского государственного университета, 2007. 66 с.
4. *Бочарова Т.А., Шихин А.В., Полторацкая Т.Н., Панкина Т.М.* Описторхоз, меры борьбы и профилактика. Томск: Изд-во Томского государственного университета, 2007. 48 с.
5. *Быховская-Павловская И.Е.* Паразитологическое исследование рыб. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1952. 63 с.
6. *Воронин В.Н., Исси И.В.* О методиках работы с микроспоридиями. // Паразитология. 1974. Т. 8, № 3. С. 272–273.
7. *Гусев А.В.* Методика сбора материалов по моногеням. М.: ЗИН АН СССР, ВНИИПРХ, 1978. 34с.
8. *Гусев А.В.* Методика сбора и обработка материалов по моногеням, паразитирующим у рыб. Л.: Наука, 1983. 48 с.
9. *Евсеева Н.В.* Охрана здоровья рыб в аквакультуре. Петрозаводск: Изд-во ПетроГУ, 2008. 44 с.
10. *Крылов О.Н.* Методические указания по гематологическому обследованию рыб в водной токсикологии. Л. 1974. С. 3–39.
11. *Мусселиус В.А., Ванятинский В.Ф., Вихман А.А.* Лабораторный практикум по болезням рыб. М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. 296 с.
12. *Нельсон Д. С.* Рыбы мировой фауны. М.: Либроком, 2009. — 880 с.
13. *Петрушевский Г.К., Петрушевская М.Г.* Достоверность количественных показателей при изучении паразитофауны рыб. Паразитологический сборник. Л.: ЗИН АН СССР, 1960. № 19. С. 333–343.
14. *Правдин И.Ф.* Руководство по изучению рыб. М. : Пищевая пром-ть,

1966. – 376 с.

15. Романов В. И. Ихтиофауна России в системе рыб мировой фауны. Томск: Издательский Дом ТГУ, 2015. 410 с.

16. Романов В.И., Петлина А.П., Бабкина И.Б. Методы исследования пресноводных рыб Сибири. Томск : Изд-во Том. гос. ун-та, 2012. – 252 с.

17. Симакова А.В., Панкова Т.Ф., Полторацкая Н.В. Общая паразитология (учебное пособие). Томск: Издательский дом ТГУ, 2016. 152 с.

18. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих / под. ред. Ю.В. Полякова. М: «Мир». 1975. 326 с.

19. Хотеновский И.А. Методика изготовления препаратов из диплозоонов // Зоологический журнал. 1974. Т. 53, вып. 7. С. 1079–1080.

20. Юхименко С.С. Методика обследования носовых полостей молоди рыб // Паразитология. 1972. Т. 6, № 1. С. 83–84.

21. Larsson R.J.I. Fixation of microsporidian spores for electron microscopy. // J. Invertebr. Pathol. 2005. Vol. 90. P. 47–50.

22. Nelson J. S. Fishes of the World. Hoboken: John Wiley & Sons, 2006. 601 p.

23. Nelson, Joseph S., Terry C. Grande, and Mark VH Wilson. Fishes of the World. John Wiley & Sons, 2016. 752 p.

24. Undeen A.H., Vavra J.I. Research methods for entomopathogenic Protozoa. // In: Lacey L.A. ed. Manual of techniques in insect pathology. Academic Press. 1997. P. 117–151.

*Издание подготовлено в авторской редакции*

Отпечатано на участке цифровой печати  
Издательского Дома Томского государственного университета

Заказ № 2977 от «25» января 2018 г. Тираж 50 экз.



