

МОСКОВСКИЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА, ОРДЕНА ОКТЯБРЬСКОЙ РЕВОЛЮЦИИ
И ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени М.В.ЛОМОНОСОВА
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

УДК 582.288:597-12

МАРЧЕНКО
Александр Михайлович

ГРИБЫ - ВОЗБУДИТЕЛИ МИКОЗА
ПЛАВАТЕЛЬНОГО ПУЗЫРЯ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ

Специальность 03.00.05 - ботаника

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва - 1984

Работа выполнена в лаборатории ихтиопатологии Всесоюзного научно-исследовательского института прудового рыбного хозяйства /ВНИИПРХ/.

Научные руководители:

доктор биологических наук, профессор В.А.МУССЕЛИУС
кандидат биологических наук, доцент Т.П.СИЗОВА

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор О.Н.БАУЕР
кандидат биологических наук, старший научный
сотрудник Т.Г.МИРЧИНК

Ведущее учреждение: Белорусское научно-производственное объединение рыбного хозяйства

Защита состоится *14 декабря 1984 г. 15²⁰* на заседании специализированного совета К.053.05.14 в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова по адресу: Москва, П19899, Ленинские горы, МГУ, биологический факультет.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке биологического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова.

Автореферат разослан

Ученый секретарь
специализированного совета

Ю.Т.ДЬЯКОВ

Актуальность темы. Решением XXVI съезда КПСС намечено в XI пятилетке увеличить производство рыб в рыбоводных хозяйствах в 1,8-2,0 раза.

В выполнении поставленной задачи большое значение имеет интенсификация выращивания традиционных видов прудовых рыб, а также лососевых, которые служат важным источником высококачественной, деликатесной продукции. Перспективным направлением интенсификации лососеводства становится выращивание рыб в бассейнах как наиболее совершенной формы управляемого рыбоводства.

Создание управляемых систем для содержания рыб сопровождается формированием экологических условий, не характерных для естественных водоемов и прудов. При этом наряду с многими гидробиологическими параметрами изменяется видовой и количественный состав микроорганизмов и, в частности, грибов. Контакт рыбы с новыми для их среды обитания микроорганизмами приводит к ранее неизвестным видам патологии, в результате которых происходит гибель рыб, что наносит ощутимый ущерб рыбоводству. Так гриб *Phoma herbatum* ранее был известен как широко распространенный сапротроф, однако в условиях индустриального рыбоводства зарегистрирован как опасный патоген, поражающий плавательный пузырь молоди лососевых рыб.

Проведенные предварительные исследования показали наличие заболевания и связанной с ним гибели рыб на многих рыбоводных предприятиях страны. Слабая изученность микоза и отсутствие мер борьбы определили актуальность его дальнейшего изучения.

Цель работы. Изучить грибы - возбудители микоза плавательного пузыря и разработать меры борьбы с ними.

Задачи исследования. Для достижения цели работы перед нами были поставлены следующие задачи:

1. Сбор и анализ эпизоотических данных по заболеванию.
2. Выделение и всестороннее изучение грибов - возбудителей микоза плавательного пузыря лососевых рыб.
3. Обнаружение источника грибов и выяснение условий, благоприятствующих их развитию.
4. Определение путей проникновения грибов в рыбу и изучение ответной реакции организма на их внедрение.

з. определение чувствительности грибов к некоторым химиопрепаратам и разработка мер борьбы с заболеванием.

Научная новизна. Изучено ранее неизвестное в СССР заболевание лососевых рыб - микоз плавательного пузыря. Впервые разработан эффективный способ борьбы с ним. Доказана этиологическая роль 7 видов несовершенных грибов, причем 6 из них описаны как возбудители заболевания впервые, а гриб *volutella salmonis* определен как новый для науки вид. Установлено наличие у гриба *Phoma herbagum* стабильных и нестабильных штаммов. Определено, что эти штаммы и их морфологические варианты имеют неодинаковые факторы патогенности и отличаются друг от друга не только по морфологическим признакам, но и по вирулентности. Выявлен источник грибов и условия, благоприятствующие их развитию в бассейнах. Подобраны препараты и разработана схема их применения с целью уничтожения грибов.

Практическая ценность работы. Разработан способ профилактики микоза плавательного пузыря, позволяющий предупредить гибель 5-10% мальков в возрасте до 3 месяцев и 15% зимующих сеголетков лососевых рыб.

Предложен метод оценки патогенности грибов для рыб, позволяющий избежать ошибок при определении их этиологической роли, особенно при изучении новых грибных заболеваний. Разработан метод определения зараженности рыб возбудителями микоза путем посева плавательных пузырей. Предложен способ и приспособление для экспериментального заражения рыб через плавательный пузырь, которые могут быть использованы в научных учреждениях для выяснения путей проникновения возбудителей в организм рыб.

Установлен возраст рыб и условия внешней среды, при которых рыбы не устойчивы к грибным заболеваниям, что позволит разрабатывать профилактические мероприятия не только против микоза плавательного пузыря, но и других микозов.

Материал диссертации внедрен в учебный процесс по курсу "Болезни рыб" через учебники и кинофильм.

Апробация работы. Результаты исследований, изложенные в диссертации, доложены на II симпозиуме по болезням и паразитам рыб Ледовитоморской провинции в пределах СССР /Томск, 1977/, между лабораторных семинарах иктиопатологов ВНИИПРХ, ГосНИСРХ и УкрНИИРХ /Ленинград, 1978, 1980, 1982; Рыбное, 1979, 1981; Киев, 1984/, Всесоюзном семинаре "Пути улучшения ветеринарно-санитарных мероприятий по профилактике и ликви-

дации инфекционных болезней рыб в рыбоводных хозяйствах и бассейнах зимовальных комплексов" /Москва, 1978/, УИ Всесоюзном совещании по паразитам и болезням рыб /Ленинград, 1979/, Всесоюзном совещании "Организация мероприятий по борьбе с инфекционными болезнями рыб" /Москва, 1981/.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, в которых отражены основные положения исследования.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, 7 глав, обсуждения результатов, выводов, списка литературы /129 наименований, из них 54 зарубежных авторов/. Материалы изложены на 156 страницах, включая 20 таблиц и 39 рисунков.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования поражений грибами плавательного пузыря рыб проводили в течение 8 лет. За этот период обследовано 15 рыбоводных предприятий в различных климатических зонах СССР. Материалом исследований служили 7 видов лососевых рыб /радужная форель, кета, горбуша, атлантический лосось, нерка, каспийская кумжа, гегаркуни/ в количестве 8947 шт. и грибы, выделенные из их плавательных пузырей. Кроме того, объектом микробиологических исследований были вода, воздух и инвентарь на рыбоводных предприятиях. При изыскании дезинфицирующих средств были испытаны формалин и гипохлорит натрия.

Грибы в плавательном пузыре рыб обнаруживали микроскопическими методами с последующим выделением их на плотные питательные среды. Однако обнаружить споры гриба, что необходимо для определения зараженности рыб грибом сразу после заражения, данными методами практически невозможно ввиду малых размеров спор. Для обнаружения грибов на этой стадии мы разработали новый метод - метод посева плавательных пузырей. Для количественной характеристики зачатков грибов в воздухе использовали метод седиментации из воздушного потока на чашки Петри /Грегори, 1964; Курасова и др., 1971/. Выделение из воды осуществляли методом разлива проб по поверхности питательных сред /Наумов, 1937; Курасова и др., 1971; Артемчук, 1981/. Для обнаружения грибов на поверхности рыбоводного оборудования делали соскоб и исследовали его под микроскопом. Если после этого не удавалось определить вид грибов, то мицелий вы-

севали на питательные среды, и последующее определение вели по культурально-морфологическим признакам полученных культур. Чистые культуры грибов, свободные от загрязнителей /бактерий, плесени/, получали с помощью добавления в среды антибиотиков - пенициллина и стрептомицина, а также методом тонких суспензий /Vishniac, 1956; Артемчук, 1981/. При изучении стабильности штаммов *Phoma herbarum* применяли метод анализа монокультуральных расщепов на наборе агаризированных сред /Минкевич, 1964; Пальмова, 1971; Мацкевич, 1981/. Для определения концентрации и времени воздействия гипохлорита натрия и формальдегида, необходимых для уничтожения образцов грибов на поверхности рыбоводных емкостей, предварительно был применен метод определения чувствительности образцов грибов на панелях к данным дезинфектантам /Поляков, 1969/.

Одним из основных методов определения этиологической роли грибов и изучения эпизоотологической цепи заболевания была биологическая проба /Баляков, 1964/. При этом для экспериментов применяли аквариумы разработанной нами конструкции. При проведении гистологических исследований микоза плавательного пузыря лососевых рыб использовали методы, рекомендуемые С.К.Хмельницким /1973/ и Р.Дж.Робертсом /Roberts, 1978/.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Виды грибов - возбудителей микоза плавательного пузыря лососевых рыб

При посевах плавательных пузырей и их содержимого нами было выделено большое количество видов грибов, принадлежащих к различным систематическим группам. Однако возбудителями заболевания признаны только те виды грибов, для которых подтверждена связь с микозом плавательного пузыря по всем критериям Коха /табл./. Грибы, обладающие незначительной изменчивостью, исследовали только на патогенность, а у *Phoma herbarum* изучали также вирулентность штаммов.

Видовой состав грибов - возбудителей микоза разнообразен, но все они относятся к дейтеромицетам. Повсеместно от больных рыб выделяли грибок *Phoma herbarum*, а вид *Euglenochaeta asicola* обнаружен только на рыбоводных предприятиях Кавказа и Закавказья. Остальные виды примерно с одинаковой частотой встре-

Таблица
Систематическое положение грибов, вызвавших
поражение плавательного пузыря лососевых рыб

Отдел	Eukaryota			
Класс	Deuteromycetes			
Порядок	Семейство		Вид	
Hyphomycetales	Moniliaceae	1	<i>Acremonium kiliense</i>	
		2	Grutz, Gams	
		2	<i>Tolyposcladium inflatum</i>	
			1	W. Gams
			1	-----
		Dematiaceae	2	<i>Alternaria consortiale</i>
			1	(Thlem) Hughes
			1	-----
		Tuberculariaceae	2	<i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.)
			2	Sacc. var. <i>herbarum</i>
	2		(Corda) Sacc.	
		2	<i>Volutella salmonis</i> ,	
		1	spec. nov.	
		1	-----	
Sphaeropsidales	Sphaerioidaceae	2	<i>Pyrenochaeta acicola</i>	
		2	(Lev.) Sacc.	
		2	<i>Phoma herbarum</i> Westend	

чались у рыб в умеренной климатической зоне. Ранее возбудителем микоза плавательного пузыря считали только *P. herbarum* (Wood, 1968; Ross et al., 1975; Wolke, 1975; Miyazaki et al., 1977). Другие виды грибов до наших исследований не были известны как патогены рыб. Их относили к сапротрофам или паразитам растений. Нами было определено, что гриб *Volutella salmonis* - новый для науки вид, а культурально-морфологические признаки остальных грибов соответствовали описаниям в существующих определителях.

Стабильные и нестабильные штаммы *P. herbarum* и их морфологические варианты

Разнообразие штаммов *P. herbarum*, их изменчивость и вирулентность изучали на 62 изолятах, полученных от ралужной форели в условиях одного хозяйства.

В посевах кусочков мицелия /не менее 3/ из плавательного пузыря одной рыбы, погибшей от микоза плавательного пузыря или взятой для контрольного вскрытия, почти всегда вырастали морфологически однотипные колонии. Одну из этих колоний обозначали как штамм, затем, применяя метод анализа моноконидиальных рассевов на наборе агаризированных сред, определяли его стабильность. Стабильные штаммы в моноконидиальных рассевах на каждой из испытываемых сред имели морфологически однотипные колонии. Различия между колониями на разных средах были проявлением модификационной изменчивости, так как при пересеве мицелием или конидиями на стандартную среду /картофельно-декстрозный агар/ вырастали клоны, фенотипически подобные исходному штамму. Выявленные стабильные штаммы по культурально-морфологическим признакам можно было объединить в 8 групп. В рассевах популяций нестабильных штаммов наблюдали дифференциацию колоний на каждой из сред на две или три культурально-морфологические группы, из которых одна включала колонии, аналогичные колониям исходного штамма. Моноспоровые культуры, полученные при рассеве колонии из данной группы, также можно было объединить в две или три культурально-морфологические группы. Культуры /морфологические варианты/, полученные при первом и последующих моноконидиальных рассевах и непохожие на исходный штамм, в проведенных пассажах воспроизводили себя в 100% наблюдений, то есть были стабильными. Подобные им культуры часто выделяли от зараженных рыб.

Количественное соотношение морфологических вариантов у аналогичных нестабильных штаммов во всех моноконидиальных рассевах было одинаковым.

Штаммы, выделенные от рыб, погибших от микоза плавательного пузыря, образовывали красный пигмент сами, или же его можно было обнаружить у некоторых морфологических вариантов, полученных при моноконидиальном рассеве данного штамма. Отли-

чающиеся по морфологии пигментообразующие штаммы вызвали у рыб различные патологические изменения.

Часто в плавательном пузыре рыб, вскрытых при контрольном обследовании или погибших в результате какого-либо заболевания, но не от микоза плавательного пузыря, обнаруживали незначительно развитый мицелий и слабо выраженные патологические признаки. При посеве этого мицелия на питательные среды получали стабильные культуры *P. herbarum*, которые часто соответствовали стабильным беспигментным морфологическим вариантам, полученным в моноконидиальных рассевах пигментообразующих штаммов. Нередко получали изоляты, которые образовывали в плавательном пузыре рыб хорошо развитый мицелий, но при этом не проникали в его стенку и не вызвали значительных патологических изменений. Пигментообразование у них было слабым и непостоянным. От рыб, погибших от микоза плавательного пузыря, подобные культуры *P. herbarum* не выделяли.

Вирулентность различных штаммов *Phoma herbarum*

При сборе материала от естественно зараженных рыб было замечено, что различные штаммы *P. herbarum* вызывают у рыб поражения различной степени, то есть имеют неодинаковую вирулентность. Для подтверждения этого предположения была поставлена биопроба, в которой было заражено 9 групп молоди радужной форели различными штаммами гриба /стабильными и нестабильными/.

Ретрокультуры, полученные при определении зараженности методом посева плавательных пузырей от рыб, выдержанных во взвеси конидий нестабильных штаммов, были подобны морфологическим вариантам, имевшимся в моноконидиальных рассевах данных штаммов. Соотношения морфологических вариантов в моноконидиальных рассевах и посевах плавательных пузырей приблизительно равны. Полученные результаты подтверждают наши данные о том, что у *P. herbarum* есть генетически неоднородные штаммы, которые, расщепляясь, дают при воспроизводстве отдельными конидиями несколько морфологических вариантов.

Таким образом, в группе, зараженной нестабильным штаммом, были рыбы, пораженные различными морфологическими вариантами этого штамма, которые оказывали на рыбу неодинако-

вые патологические воздействия. Из морфологических вариантов "мицелиального красного" штамма вирулентным был "мицелиальный красный" вариант, то есть вариант, подобный исходному штамму. А в случае с "27-м смешанным" штаммом вирулентным оказался вариант, непохожий на исходный штамм. Это обстоятельство очень важно, и его нужно учитывать при изучении патогенности грибов. В медицинской и ветеринарной микологии /Фейер и др., 1966; Кашкин и др., 1979; Лещенко, 1982/ при определении этиологической роли гриба или при изучении патогенности используют чистые, часто моноспорные, культуры. При этом не учитывают возможности расщепления нестабильных грибов на морфологические варианты, в результате чего часто при получении чистых культур выделяют какой-либо морфологический вариант и переносят определенные при его изучении свойства на исследуемый штамм, что приводит к ошибочной оценке вирулентных свойств, а отсюда к неправильному пониманию этиологической роли гриба при заболевании. Следовательно, прежде, чем перейти к изучению патогенности и вирулентности гриба, необходимо определить его стабильность, выделить все морфологические варианты и с каждым из них провести исследования на вирулентность.

В посевах плавательных пузырей рыб, зараженных стабильными штаммами, получены культуры, подобные исходным штаммам. Стабильные штаммы с различными культурально-морфологическими признаками имели неодинаковую вирулентность. Так "мицелиальный красный фестончатый" штамм вызвал гибель 60% зараженных рыб, а в группе рыб, зараженных стабильным "серым" штаммом, от микоза плавательного пузыря не погибло ни одной рыбы. На основании этого можно предположить, что стабильный "мицелиальный красный фестончатый" штамм по отношению к подопытной радужной форели более вирулентен, чем другие испытываемые штаммы. В конце опыта у 19,5% зараженных данным штаммом рыб грибок изолирован в виде незначительно развитого мицелия, а приблизительно у 20% подозреваемых в заражении рыб грибок визуально не обнаружен. Это явление можно объяснить неоднородностью подопытной популяции радужной форели, в которой встречаются особи с различной реактивностью организма, в результате чего штамм гриба в одних рыбах погибает под воздействием защитных свойств организма, в других устанавливает только первичные взаимоотношения /незначительное развитие гриба/, а в третьих

преодолевают неспецифические защитные механизмы, разрастается и поражает жизненно важные органы.

Большая часть испытываемых штаммов была способна устоять с форелью только первичные взаимоотношения или погибнуть. Такие штаммы отличались друг от друга тем, что количество рыб, в которых они начинали развиваться, было различным. Это свидетельствует о том, что штаммы отличаются не только по культурально-морфологическим, но и по физиологическим признакам.

Способность устанавливать первичные взаимоотношения с организмом рыб у морфологических вариантов "зеленовато-голубого" и "серого", образовавшихся в результате расщепления "мипцелиального красного" штамма, аналогична таковой у испытываемых "зеленовато-голубого" и "серого" штаммов, полученных от естественно зараженных рыб. Таким образом, можно предположить, что эти морфологические варианты и подобные им испытываемые штаммы генетически родственны.

Токсичность и культуральной
жидкости штаммов *Rhiza herbarum*

Продукты метаболизма гриба, выделяемые в окружающую среду, могут быть одним из факторов патогенности. Поэтому были проверены на токсичность фильтраты культуральной жидкости нескольких штаммов *R. herbarum*, выращенных в жидкой синтетической среде Чапека.

По нашим наблюдениям, способность образовывать красный пигмент - один из признаков высоковирулентных штаммов. Однако фильтраты культуральной жидкости только "27-го смешанного" штамма и штамма, подобного его морфологическому варианту, были сильнотоксичными для рыб. Культуральные жидкости других пигментообразующих штаммов оказались нетоксичными. Возможно, это связано с тем, что пигмент, образуясь в виде кристаллов вдоль гиф, не растворим или плохо растворим в воде и при фильтрации задерживается на фильтре. В тех же случаях, когда он образуется на гифах в плавательном пузырьке /что мы неоднократно наблюдали/, его токсическое действие на близлежащие клетки проявляется. Вполне вероятно, что красный пигмент служит фактором патогенности с инвазивной функцией, позволяющей грибу преодолевать защитные приспособления организма /например,

фагоцитоз/ и размножаться в нем, вызывая затем необратимые патологические изменения.

Полученные результаты дают возможность предположить, что различные штаммы *P. herbatum* обладают разными факторами патогенности.

Особенности роста *P. herbatum* в воде

Гриб при погружении в воду продолжал активно расти, однако характер роста в воде с барботажем воздуха и без него был различным. Так, в последнем случае гриб образовывал только стерильные гифы, которые часто формировали мощные мицелиальные тяжи. На этих тяжах иногда возникали пикниды, но конидий в них не наблюдали, в то время как в аэрируемой воде у гриба пикнид образовывалось много, и все они содержали большое количество конидий. Кроме того, на гифах возникали образования, которые мы назвали "латеральными спорами". Они формировались следующим образом: стенка гифы рядом с септой выпячивалась, образуя вырост, похожий на начало роста новой ветви гифы, апикальный рост быстро прекращался, между выростом и несущей его гифой формировалась перегородка. Клетка незначительно увеличивалась в объеме, округлялась, затем ее оболочка утолщалась и приобретала коричневый цвет. "Латеральные споры" при незначительных механических воздействиях отделялись от гифы. Их размер 5,0-6,5 x 7,5-10,0 мкм. При высеве на питательные среды эти споры прорастали, образуя колонии, подобные исходным.

Таким образом, *P. herbatum* хорошо растет в аэрируемой воде и выделяет в нее большое количество не только пикноспор, но и "латеральных спор".

Полученные результаты позволяют объяснить причины обильного роста данного и, по-видимому, других грибов в бассейнах лососевых хозяйств. Лососевые рыбы очень требовательны к растворенному в воде кислороду, поэтому в бассейнах, где их выращивают, различными способами поддерживают содержание кислорода на высоком уровне. Для развития грибов также необходим кислород. Этот фактор, а также обилие органики благоприятствуют развитию грибов в бассейнах.

Клинические признаки при микозе плавательного пузыря

В начальный период заболевания рыб внешние заметных клинических признаков нет. Однако при вскрытии этих рыб чаще всего в хвостовом конце плавательного пузыря можно обнаружить комочек, состоящий из сплетения гиф. По мере разрастания грибок заполняет почти всю полость плавательного пузыря, что приводит к нарушению его гидростатической функции, и рыба опускается на дно. Иногда она с трудом поднимается к поверхности воды, совершая быстрые движения хвостом. При этом положение тела рыбы вертикальное. У кеты, кроме того, наступает паралич задней половины тела, и при попытке рыбы плыть эта часть неподвижна, а передняя совершает маятникообразные движения. Захваченный у поверхности воды воздух скапливается в желудке, так как плавательный пузырь заполнен гифами гриба. В результате нарушается пищеварительная функция желудка. Он увеличивается в размере, стенка его истончается, становится прозрачной. Содержимое желудка состоит из пузырьков воздуха и мутной густой слизи. Гифы грибов, прорастая в близлежащие органы и ткани, разрушают их. В результате поражения мышц на брюшной стенке образуются выпячивания кровянистые. В связи с поражением почек нарушается их выделительная функция. Это приводит к появлению жидкости в брюшной полости. Водянка и увеличение размеров желудка влекут за собой увеличение брюшка в передней части тела.

Эпизоотология заболевания и меры борьбы с ним

Исследователи, занимавшиеся изучением микоза плавательного пузыря, не касаются в своих работах вопроса об источниках инфекции, а это очень важно, так как от правильности его определения зависит успех борьбы с заболеванием. Нами микологическим обследованием среды, окружающей рыб, установлено, что в воздухе, воде, стекающей в рыбоводные емкости, грибы содержатся в значительном количестве. Однако в воде рыбоводных емкостей число зачатков резко возрастает. Анализ причин, способствующих увеличению количества грибов в емкостях, показал,

что в них создаются благоприятные условия для развития грибов: большие площади поверхностей стенок для прикрепления, обилие органических остатков, хорошее насыщение воды кислородом - все это способствует развитию грибов, которые принято считать не водными. Подобное явление наблюдали с почвенным грибом *Scolecobasidium humicola* Verron a. Busch, который в массе развился в распределительном резервуаре с водой и стал причиной заболевания кижуча /Ajello et al., 1977/.

Концентрация зачатков грибов в воде тем больше, чем меньше рыбоводная емкость, в которой они находятся, так как в маленькой емкости площадь стенок, приходящаяся на единицу объема воды, больше, чем в более крупной емкости, а стенки необходимы для прикрепления грибов. Поэтому в небольших емкостях увеличивается вероятность возникновения заболевания.

Вышесказанное подтверждается, в частности, тем, что в условиях Сахалинских лососевых заводов микоз плавательного пузыря не возникает. Как оказалось, в питомниках заводов количество органических веществ в воде, в связи с отсутствием кормления, незначительное, площади поверхностей стенок на единицу объема воды малы, к тому же температура воды низкая. Все это сдерживает массовое развитие грибов.

По наблюдениям Вуда /Wood, 1968/ и нашим данным, заражение рыб грибами происходит при наполнении плавательного пузыря воздухом во время поднятия на плав. Кроме того, нами установлено, что грибы с каплями воды из емкости могут попадать в плавательный пузырь рыб старших возрастов при периодических заглываниях ими воздуха. Инкубационные аппараты за время инкубации икры, которая у лососевых рыб развивается продолжительное время, сильно обрастают грибами. По существующей биотехнике выклюнувшиеся из икры личинки содержатся в этих аппаратах до подаятия на плав /Титарев, 1980/. Применение такого приема нежелательно, так как при поднятии на плав происходит заражение личинок. Поэтому рекомендуем использовать другой существующий биотехнический прием, при котором икру за 3-4 дня до выклева или предличинок сразу после выклева переносят в дезинфицированные бассейны. В этих бассейнах рыба встает на плав и находится в течение всего периода выращивания /Канидзев и др., 1975/. По нашим данным, содержание личинок и молоди лососевых длительное время в бассейнах.

не подвергавшихся периодической дезинфекции, также может привести к заболеванию рыб микозом плавательного пузыря, так как за это время стенки бассейна обрастают грибами, продуцирующими в воду большое количество зачатков. Установлено, что в предварительно дезинфицированной емкости опасная для рыб концентрация зачатков грибов создается к 20-му дню эксплуатации. Исходя из этого, предлагаем в период выращивания рыб проводить повторную дезинфекцию емкостей через каждые 20 дней. Для дезинфекции в рыбоводстве используют многие дезинфектанты. Мы выбрали для изучения эффективные против грибов, дешевые и выпускаемые в достаточном количестве в СССР препараты - гипохлорит натрия и формалин и установили, что опрыскиванием внутренних стенок рыбоводных емкостей 2%-м раствором формальдегида или раствором гипохлорита натрия, содержащим 2% активного хлора, с экспозицией 30 минут достигается полное уничтожение грибов. Периодические дезинфекции нужно проводить не в течение всего периода выращивания, а только при пониженной сопротивляемости организма рыб к грибным инфекциям. Это можно аргументировать следующим образом: предполагается, что основное значение в сопротивлении организма инфекциям, вызванным грибами, имеет клеточный иммунитет. Доказательства того, что антитела, как таковые, обладают защитным свойством против грибных заболеваний, мало убедительны /Bell, 1977; Дик, 1982; Schmale et al., 1983/. Исследованиями ряда авторов показано, что при грибной инфекции действует и эффективно ограничивает ее воспалительная тканевая реакция, включая фагоцитоз, осуществляемый клетками лейкоцитарного ряда /Emmons et al., 1970; Mukherji et al., 1972; Damer et al., 1974; Culter, 1976/. По нашим данным, эти механизмы полностью формируются у рыб рода *Salmo* к двухмесячному, а у рыб рода *Oncorhynchus* к трехмесячному возрасту. Интересно отметить, что И.Н.Остроумовой /1957/ получены результаты по возрастным изменениям состава клеток крови радужной форели, которые подтверждают наши предположения о состоянии организма, благоприятствующем возникновению микоза. Так, в период поднятия на плав и предполагаемого первого заражения рыб грибом наблюдается абсолютное уменьшение количества клеток белой крови, затем резкое относительное и абсолютное уменьшение числа лимфоцитов /основных защитных клеток/. Основ-

ная гибель от микоза происходила среди рыб этого возраста. К 29-му дню общее количество белой крови возрастало за счет появления новых клеток, сходных с клетками взрослых рыб, причём кровь принимала лимфоидный характер. В этот же период развития /23-й день после поднятия на плав/ мы отметили, что вновь попавшие в плавательный пузырь зачатки грибов быстро элиминируются. По данным И.Н.Остроумовой, к 40-му дню у мальков форели белая кровь была представлена формами, сходными с белой кровью взрослых рыб. К этому сроку в наших экспериментах и в естественных условиях радужная форель перестала гибнуть от микоза плавательного пузыря. Однако в обоих случаях гибель возобновлялась, если рыбу содержали в воде с температурой ниже $+7^{\circ}\text{C}$. Снижение реактивности организма рыб при низкой температуре воды исследователи объясняют уменьшением количества лейкоцитов в крови в связи с угасанием гемопоэза /Остроумова, 1957; Лебедева, 1959; Anderson, 1974/, замедлением темпа фагоцитоза, ослаблением воспалительной реакции /Finn et al., 1971/. Все эти явления наблюдали и мы при гистологических исследованиях.

Таким образом, на основании данных по реактивности организма лососевых рыб мы пришли к заключению, что периодические дезинфекции нужно проводить в процессе выращивания рыб до 2-3-месячного возраста, а затем продолжать их или возобновлять, если рыбы будут содержаться в воде с температурой ниже $+7^{\circ}\text{C}$. Этим мы сможем исключить контакт возбудителя и хозяина в периоды предрасположенности рыб к грибным заболеваниям. При обследовании рыбоводных предприятий нами определена среднестатистическая гибель, которая для личинок и мальков лососевых рыб составила 5-10%, кроме того для зимующих сеголетков 15%. Заболеваемость /по литературным и нашим данным/, по-видимому, зависит от санитарного состояния рыбоводных предприятий. Предлагаемые профилактические мероприятия позволят предотвратить гибель рыб от микоза плавательного пузыря и этим обеспечить соответствующий экономический эффект.

ВЫВОДЫ

I. Изучено ранее неизвестное в СССР заболевание лососевых рыб - микоз плавательного пузыря.

2. Доказана этиологическая роль и изучены культурально-морфологические признаки 7 видов несовершенных грибов: *Acremonium kilianense*, *Tolyposcladium inflatum*, *Alternaria consortiale*, *Fusarium avenaceum*, *Volutella salmonis*, *Puccinochaeta ascicola*, *Phoma herbarum*. Все виды, кроме *P. herbarum*, зарегистрированы как возбудители микоза плавательного пузыря впервые.

3. Гриб *volutella salmonis* описан как новый для науки вид, а *Tolyposcladium inflatum* отмечен для СССР впервые.

4. Изучены культурально-морфологические признаки и вирулентность 8 стабильных и 2 нестабильных штаммов *P. herbarum*, а также их морфологических вариантов. Определено, что морфологические варианты одного штамма отличаются не только по морфологическим признакам, но и вирулентностью, а различные штаммы *P. herbarum* могут иметь неодинаковые факторы патогенности.

5. Выяснено, что при определении патогенности гриба необходимо предварительно изучить его стабильность и затем у каждого из выявленных морфологических вариантов определить патогенность.

6. У *P. herbarum* обнаружен новый вид спор - "латеральные споры", которые образуются на грибе, растущем в аэрируемой воде. Описан процесс их формирования.

7. Установлено, что грибы, попав в рыболовные емкости в виде единичных зачатков, находят условия, благоприятные для массового развития. Определены факторы, тормозящие развитие грибов в питомниках лососевых заводов Сахалина.

8. Все виды обследованных нами рыб из рода *Salmo* /радужная форель, атлантический лосось, каспийская кумжа, гегаркуни/ и *Spisoglycus* /кета, горбуша, нерка/ подвержены микозу плавательного пузыря.

9. Определены пути попадания грибов в плавательный пузырь рыб, а также изучены эпизоотология и патогенез заболевания.

10. Установлена связь между возникновением микоза плавательного пузыря и реактивностью организма рыб, которая зависит от возраста и условий их содержания.

11. Разработан способ профилактики микоза плавательного пузыря, позволяющий сохранить 5-10% мальков и до 15% зимующих сеголетков. Оформлена заявка на изобретение этого способа и получена приоритетная справка.

12. Разработаны два новых метода исследования: "Определение зараженности рыб методом посева плавательных пузырей" и "Метод экспериментального заражения рыб через плавательный пузырь", а также приспособление "Аквариум для экспериментальных исследований по болезням и физиологии рыб", которые признаны рационализаторскими, и на них получены удостоверения.

По материалам диссертации
опубликованы следующие работы:

- 1 Марченко А.М. Глубокий микоз - заболевание форели. - Рыбное хоз-во, 1978, № 5, с. 34-37.
- 2 Марченко А.М. Гриб Sclerophoma sp. может заражать карпа. - Экспресс информ., сер. 8, 1978, вып. 10, М/ЦНИИТЭИРХ, с. 18-20.
- 3 Марченко А.М. Несовершенные грибы - возбудители болезни лососевых рыб. - В кн.: Всесоюзный семинар "Пути улучшения ветеринарно-санитарных мероприятий по профилактике и ликвидации инфекционных болезней рыб в рыбоводных хозяйствах и бассейнах зимовальных комплексов": Тез. докл. М., 1978, с. 34-35.
- 4 Марченко А.М. Болезни радужной форели в прудах Алтая. - Экспресс информ., "Рыбохозяйственное использование внутренних водоемов", 1979, вып. 4, М/ЦНИИТЭИРХ, с. 4-8.
- 5 Марченко А.М. К эпизоотологии глубокого микоза радужной форели. - В кн.: УП Всесоюзное совещание по паразитам и болезням рыб /Ленинград, сентябрь, 1979 г./: Тез. докл. Л., с. 68-69.
- 6 Марченко А.М., Купинская О.А. Микоз плавательного пузыря молоди кеты. - В кн.: Всесоюзное совещ. "Организация мероприятий по борьбе с инфекционными болезнями рыб": Тез. докл. М., 1981, с. 43-45.

А.М. Марченко

Л - 03102

Подписано к печати 1.06.84 г.

Формат 60 x 90/8

Объем - 1 п.л.

Тираж - 100 экз.

Заказ № 166

Участок оперативной полиграфии ВНСО по рыбководству,
п. Рыбное, Дмитровский р-н, Московская обл.