

НОВОЕ В БОРЬБЕ ПРОТИВ ДИПЛОСТОМОЗОВ РЫБ

С.М. Дегтярик, А.В. Беспалый, Р.Л. Асадчая, Н.А. Бенецкая, Т.А. Говор

*РУП «Институт рыбного хозяйства»,
220024, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Стебенева, 22,
e-mail: belniirh@tut.by*

NEW TRENDS IN ELIMINATING FISH DISTOPLASMOSIS

S. Degtjaryk, A. Bespaly, R. Asadchaya, N. Benetskaya, T. Govor

*RUE "Fish industry institute",
220024, Stebeneva str., 22, Minsk, Republic of Belarus,
e-mail: belniirh@tut.by*

Реферат. Изучена встречаемость возбудителей диплостомозов рыб у рыб в естественных водоемах и рыбоводных организациях Беларуси. Для профилактики и лечения диплостомозов рыб разработан новый препарат, получивший название «Диплоцид». Гибель метацеркарий трематод р. *Diplostomum* в хрусталиках стекловидном теле глаз рыб, а также церкарий (свободноплавающих стадий паразита) после применения препарата достигала 100%.

Ключевые слова: диплостомозы рыб, диплостомы, паразиты рыб, диплоцид.

Abstract. There is studied the occurrence of fish distoplasmosis causative agents with the fish in natural water bodies and fish breeding farms of the republic of Belarus. For the purposes of prevention and treatment of fish distoplasmosis there is designed a new drug – "Diplocide". Elimination of 100% trematode metacercaria *Diplostomum* in eye lens and vitreous body of fish eyes and also cercaria (free floating parasite stages) after using the drug was observed.

Key words: fish diplostomes, diplostomes, fish parasites, diplocide.

Введение

Диплостомозы рыб – заболевания, возбудителями которых являются личинки трематод р. *Diplostomum*, паразитирующие в глазах (метацеркарии) либо активно двигающиеся сквозь органы и ткани рыбы (церкарии). Ихтиопатологи часто недооценивают эти опасные заболевания рыб. Однако

диплостомозы встречаются не только в хронической форме, т.е. в форме знакомой всем паразитарной катаракты, которая развивается при нахождении в глазах рыбы (преимущественно в хрусталике) большого количества метацеркарий паразита и сопровождается патологическими изменениями крови, нарушением жирового обмена, С-авитаминозом и снижением темпа роста. Довольно часто отмечается еще и острая форма диплостомоза, т.н. острый церкариоз, вызванный миграцией церкарий паразита сквозь органы и ткани рыбы от места проникновения до места постоянной локализации - глаза. При этом гибель молоди рыб могут вызвать единичные церкарии, оказавшиеся «по ходу следования» в головном мозге, крупных нервных стволах или сосудах. Все это наносит значительный ущерб рыбоводным хозяйствам и рыбохозяйственным водоемам [1].

К диплостомозам восприимчивы более 120 видов рыб, и не в последнюю очередь - лососевые, сиговые, осетровые [2, 3]. Методы терапии данного заболевания у нас в республике до настоящего времени отсутствовали. Борьба против диплостомозов сводилась к отпугиванию и снижению численности рыбоядных птиц (дефинитивных хозяев паразитов), а также уничтожению моллюсков (первых промежуточных хозяев) путем внесения моллюскоцидов. Однако особенности большинства прудовых хозяйств и, тем более, арендуемых водоемов не позволяют осуществлять указанные мероприятия в полном объеме.

Материалы и методы

За последние полтора десятилетия сотрудниками лаборатории болезней рыб проведен полный паразитологический анализ рыбы, как выловленной из естественных водоемов, так и разводимой в рыбоводных организациях. Исследованиями охвачено более 60 озер, 6 водохранилищ, 9 рек, более 10 рыбоводных организаций. Полному паразитологическому анализу только из естественных водоемов подвергнуто около 10000 экз. рыб различного возраста, представителей 24 видов; в рыбоводных организациях обследовано более 2000 экз. рыб (карповые, осетровые, лососевые, сомовые рыбы). При этом,

какая бы цель изначально не стояла, особое внимание обращалось на наличие (либо отсутствие) и количество метацеркарий р. *Diplostomum* в глазах у рыбы.

При постановке лабораторных опытов, направленных на поиск препарата для борьбы против диплостомозов рыб, использована рыба различных видов общим количеством 1241 экз. (сеголеток пестрого толстолобика – 33 экз., годовик пестрого толстолобика – 80 экз., сеголеток белого амура – 483 экз., годовик белого амура – 280 экз., годовик карася серебряного – 80 экз., годовик карпа – 105 экз., годовик ленского осетра – 90 экз., годовик радужной форели – 90 экз.), а также моллюски *Lymnaea stagnalis* (прудовик большой) – 436 экз. В каждом варианте опыта и контроля было использовано от 10 до 30 экз. рыбы. Контролем служили аквариумы, где рыба не была прокормлена либо обработана препаратом.

Паразитоцидную активность различных субстанций при поиске активноедействующего вещества (АДВ) будущего препарата, а также эффективность готового препарата изучали *in vitro* и *in vivo*. В первом случае в чашки Петри с водопроводной водой помещали хрусталики и стекловидные тела, извлеченные из глаз рыб, зараженных метацеркариями *Diplostomum* sp. Из неповрежденных хрусталиков метацеркарии выходят в воду за 3-5 часов, из поврежденных (надрезанных) – за 30-40 мин. [4-8]. В свободноплавающем состоянии личинки трематод остаются живыми около суток. Плавающих в воде метацеркарий обрабатывали растворами исследуемых субстанций либо готового препарата в определенных концентрациях, подсчитывали процент гибели по сравнению с контролем (чашки, в которых обработку не проводили).

Во втором случае исследуемые препараты задавали рыбе *per os* в различных дозах. После 2-10 суток наблюдения рыбу вскрывали, проводили компрессионную микроскопию хрусталиков и стекловидного тела глаз с целью определения воздействия препаратов на метацеркарии трематод р. *Diplostomum* непосредственно в организме рыбы-хозяина.

Для отработки способов и доз применения препарата «Диплоцид» и определения его токсичности для рыб препарат вводили в организм рыбы *per os*

в различных дозах, а также применяли в виде ванн различной экспозиции и концентрации.

Изучение токсичности препарата проводили согласно «Методическим указаниям по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве» [9].

Результаты исследований и обсуждение

Результаты полного паразитологического анализа показали, что наиболее многочисленной группой паразитов, представленной 10 видами (*Diplostomum sp.*, *P. cuticola*, *Rh. illense*, *P. ovatus*, *T. erraticus*, *T. percae fluviatilis*, *T. conifera*, *T. podicipina*, *Apophallus muehlingi*, *Apophallus donicus*), являлись гельминты кл. *Trematoda*. Из обнаруженных эндопаразитов наиболее распространенными являлись трематоды *Diplostomum sp.*, встречавшиеся в довольно больших количествах как у мирных, так и у хищных рыб практически во всех обследованных водоемах. Экстенсивность инвазии (ЭИ) во многих случаях достигала 75-100%, интенсивность инвазии (ИИ) доходила до 174 пар./рыбу.

Чтоб не быть голословными, приведем такой пример: для одного из наиболее изученных паразитоценозов – паразитоценоза ряда связанных между собою озер, находящихся на территории Национального парка «Браславские озера» – был определен ряд показателей, характеризующих место каждого паразитического вида в иерархии доминирования в биоценозе. Это такие показатели, как встречаемость (В), индекс обилия (ИО) и индекс доминирования (ИД). Наиболее интересен ИД, представляющий собой процент представителей конкретного вида паразитов от общего числа представителей всех видов, обнаруженных в процессе исследования. Отмечено, что лидирующее место в паразитоценозе занимают трематоды р. *Diplostomum* (В – 45,3%, ИО – 23,16, ИД – 43,7). Для остальных представителей паразитоценоза эти показатели колебались в пределах: В – от 0,9% (*Desmidocercella sp.*) до 25,9% (*Tylodelphys podicipina*), ИО – от 0,01 (*Desmidocercella sp.*) до 8,52

(*Tylodelphys podicipina*), ИД – от 0,1 (*Desmidocercella sp.*, *Piscicola geometra*, *Philometra abdominalis (ovata)*, *Bothriocephalus claviceps*) до 13,5 (*Ergasilus sieboldi*).

Был проведен ряд лабораторных экспериментов по поиску эффективной трематоцидной субстанции с целью создания на ее основе препарата для борьбы против диплостомозов рыб. На основании их результатов экспериментов был разработан препарат «Диплоцид». Его можно применять различными способами: методом группового скармливания в составе лечебного корма, методом лечебных ванн и методом внесения по воде.

Для постановки экспериментов по определению дозы применения препарата с кормом использовали годовиков белого амура, зараженных трематодами р. *Diplostomum* (ЭИ – 100%, ИИ – 12-42 пар./рыбу). В опытные и контрольные аквариумы было посажено по 10 экз. рыб. Препарат «Диплоцид», разведенный в теплой воде, задавали подопытной рыбе *per os* при помощи катетера. Контрольные экземпляры рыб получали аналогичное количество чистой воды. Препарат задавали в дозах 5, 10, 20 и 50 мг АДВ/кг веса рыбы. Поскольку навеска использованной в опытах рыбы колебалась в достаточно широких пределах (17-39 г), для того, чтобы точно выдержать дозировку, каждую рыбу взвешивали и затем производили расчет количества вводимого ей жидкого препарата по следующим формулам:

– для дозы 50 мг АДВ/кг: $X = 0,025 A$;

– для дозы 20 мг АДВ/кг: $X = A / 50$;

– для дозы 10 мг АДВ/кг: $X = A / 100$;

– для дозы 5 мг АДВ/кг: $X = A / 200$,

где: X – количество жидкого препарата, мл,

A – индивидуальный вес рыбы, г.

Наблюдение за подопытной рыбой вели в течение 3 суток после кормления, затем производили ее вскрытие и компрессионную микроскопию хрусталиков и стекловидного тела глаз. При этом подсчитывали процентное соотношение живых и погибших метацеркарий диплостоматид. Результаты

опытов свидетельствуют, что препарат «Диплоцид», заданный годовикам белого амура в дозах 5 и 10 мг АДВ/кг не вызывает в достаточной мере гибели паразитов (погибло 40 и 85% гельминтов соответственно). Препарат в дозах 20 и 50 мг АДВ/кг вызывал практически полную гибель трематод (98-100%), при этом его действие в дозе 20 мг АДВ/кг практически не отличалась от действия в дозе 50 мг АДВ/кг.

«Диплоцид» в дозе 20 мг АДВ/кг задавали также годовикам карпа (25 экз.), форели радужной (10 экз.) и ленского осетра (10 экз.), зараженным метацеркариями трематод *Diplostomum* sp. При этом получены сходные результаты: препарат в дозе 20 мг АДВ/кг вызывал гибель 95–100% трематод. Таким образом, «Диплоцид» в дозе 20 мг АДВ/кг может быть использован в дальнейшем для борьбы против диплостомозов рыб в составе лечебного корма.

Для постановки экспериментов по определению эффективных концентраций лечебных ванн использовали годовиков белого амура, зараженных метацеркариями трематод *Diplostomum* sp. (ЭИ – 100%, ИИ – 7-69 пар./рыбу). В каждом варианте опыта и контроля было использовано по 30 экз. рыб. Так как препарат «Диплоцид» слабо растворяется в воде, перед применением необходимое его количество заливали небольшим объемом горячей (40–50 °С) воды, тщательно перемешивая и растирая до образования молочно-белой жидкости. Затем вносили в воду, распределяя по всему объему. Препарат применяли в следующих дозах: 30 мг/л воды, 20 мг/л, 15 мг/л, 10 мг/л с экспозицией 60 мин. В контрольных аквариумах рыба из той же партии находилась в воде без добавления препарата. Через 2, 5 и 14 суток после обработки вскрывали по 10 экз. рыбы из каждого варианта опыта и контроля. Проводили компрессионную микроскопию глаз, подсчитывали живых и погибших паразитов.

Отмечено, что препарат в дозах 10–15 мг/л не вызывал 100%-й гибели паразитов в глазах рыб; препарат в дозах 20–30 мг/л вызывал полную гибель трематод в течение 2–5 суток. В глазах контрольных рыб все трематоды были живы и подвижны. Таким образом, препарат можно рекомендовать к применению

методом лечебных ванн из расчета 20 мг препарата на 1 л воды (20 г/м³), при экспозиции 60 мин.

Известно, что трематоды р. *Diplostomum* обладают сложным циклом развития со сменой хозяев. Дефинитивным хозяином трематод *Diplostomum* sp. являются рыбадные птицы (разнообразные виды чайковых птиц, рыбадные утки, серая цапля, кулики и др.). Первый промежуточный хозяин - моллюски (как правило, различные виды прудовиков), второй промежуточный хозяин – рыбы. Исходя из этого, борьба против диплостомозов рыб может осуществляться путем разрыва жизненного цикла возбудителя на стадии свободноплавающих церкарий.

С целью уничтожения церкарий трематод были испытаны различные дозы препарата «Диплоцид». Для этого в естественных экосистемах (оз. Нарочь, вдхр. «Вилейское») были собраны моллюски *Lymnaea stagnalis* (прудовик большой) в количестве 436 экз., из числа которых, в свою очередь, отобраны особи, зараженные трематодами р. *Diplostomum*. Для выявления зараженных особей каждого моллюска помещали в отдельную емкость с водой и по прошествии 1-2 часов просматривали воду под биноклем, отмечая при этом наличие церкарий диплостом. В результате было отобрано 32 экз. моллюсков.

Зараженных моллюсков помещали в стеклянные стаканы емкостью 1 л, наполненные водой, и добавляли препарат «Диплоцид» в дозах 20, 50 и 100 мкг/л, затем непрерывно наблюдали за поведением и состоянием церкарий паразита.

Начинали с дозы 20 мкг/л. Через 20 мин. были замечены первые отклонения в поведении церкарий; через 90 мин. многие церкарии стали малоподвижными, отдельные особи были абсолютно неподвижны; через 300 мин. (5 часов) подвижных особей практически не наблюдалось, около 50% из них расчленились (отделились органы движения – «фурки»). По прошествии 20 часов после обработки препаратом в стаканах с моллюсками живых и подвижных церкарий не наблюдалось, на дне появился слой погибших паразитов. Наблюдения за моллюсками продолжали еще в течение 10 суток, при этом вновь вышедших живых церкарий в стаканах не отмечалось. Более того, когда моллюскам сменили воду, и они оказались в среде без добавления

препарата, выяснилось, что они перестали продуцировать церкарии. Это может свидетельствовать о гибели промежуточных стадий трематод, паразитирующих в организме моллюсков.

Таким образом, при применении препарата «Диплоцид» происходит не только гибель свободноживущих стадий гельминтов р. *Diplostomum*, но и исцеление зараженных моллюсков. В это же время прудовики из контрольных групп (находящиеся в воде без добавления препарата) в течение всего времени наблюдения активно продуцировали живые, подвижные церкарии, хорошо заметные в толще воды даже невооруженным глазом. Препарат в дозах 50 и 100 мкг/л действовал точно так же, только в несколько ускоренном темпе. «Диплоцид» испытали также в дозе 10 мкг/л; при этом он не вызывал 100%-й гибели церкарий.

Следовательно, можно рекомендовать применение препарата «Диплоцид» для обработки рыбы в прудах в концентрации 20 мкг препарата на 1 л (20 мг/м³) с целью уничтожения свободноплавающих церкарий паразита. Обработка целесообразна преимущественно в прибрежной зоне, где присутствуют макрофиты и др. водная растительность, т.е. в местах обитания моллюсков.

Производственные испытания препарата «Диплоцид» проводили на базе рыбопитомника «Черница» ГПУ НП «Браславские озера», ХРУ «Вилейка» и ОАО «ОРХ «Селец». Испытания показали, что препарат эффективен для лечения и профилактики диплостомозов у рыб при применении в виде лечебного гранулированного комбикорма, а также методом лечебных ванн.

Токсичность препарата «Диплоцид» для рыб изучали на представителях следующих видов: белый амур, пестрый толстолобик, карп, карась серебряный, радужная форель, ленский осетр. Было использовано по 80 экз. годовиков каждого вида рыб (по 60 – для определения острой токсичности, по 20 – для определения хронической токсичности).

Для определения острой токсичности взяты дозы, превышающие терапевтическую в 2,5-25 раз (50-500 мг АДВ/кг). В аквариумы помещали по

10 экз. рыб каждого вида в каждом варианте опыта и по 10 экз. для контроля (контрольная рыба получала воду без добавления препарата). Рыбу кормили однократно, после чего в течение 48 часов наблюдали за ее поведением и физиологическим состоянием. Препарат задавали в жидкой форме per os при помощи катетера, предварительно разведя в кипяченой воде. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Острая токсичность препарата «Диплоцид» для рыб

Вид рыбы	Доза препарата, мг АДВ/кг					Контроль
	50	100	200	300	500	
Белый амур	0	0	0	0	0	0
Пестрый толстолобик	0	0	0	0	+	0
Карп	0	0	0	0	0	0
Карась серебряный	0	0	0	0	0	0
Форель радужная	0	0	0	+	++	0
Ленский осетр	0	0	0	0	0	0

Примечания:

0 – отсутствие токсического действия препарата: волнения, гибели, изменений внутренних органов не отмечено;

+ – непосредственно после кормления препаратом отмечено легкое волнение рыбы, прекратившееся через 3 мин.;

++ – отмечено волнение рыбы в течение более длительного времени (10-15 мин.).

Таким образом, препарат «Диплоцид» при применении в дозах, в 2,5-25 раз превышающих терапевтическую дозу, не является токсичным для рыб. Только у форели радужной и пестрого толстолобика наблюдалось небольшое волнение при применении в максимальных дозах 300-500 мг АДВ/кг. Гибели подопытных рыб не отмечено ни в одном из вариантов опыта.

При определении хронической токсичности «Диплоцида» рыбе (по 10 экз. годовиков каждого из перечисленных видов рыб в опыте и по 10 – в контроле) ежедневно в течение 10 дней задавали препарат в предполагаемой терапевтической дозе (20 мг АДВ/кг), затем на протяжении 30 дней вели наблюдение за ее поведением и физиологическим состоянием.

Отмечено, что «Диплоцид» не оказывал токсического воздействия на состояние подопытной рыбы. На протяжении и по прошествии 30 суток отклонений в поведении рыбы, а также четко выраженных патологических изменений кожных покровов, жаберного аппарата и внутренних органов (плавательный пузырь, печень, почки, желчный пузырь, мышечная ткань) по сравнению с контролем не отмечено.

Заключение

Трематоды *Diplostomum sp.* относятся к наиболее распространенным паразитам рыб. Они встречаются как у мирных, так и у хищных рыб практически во всех обследованных водоемах и рыбоводных организациях с ЭИ, достигающей 100%, ИИ, достигающей 174 пар./рыбу. Возбудители диплостомозов интенсивно поражают не только представителей карповых, но и т.н. «ценных» видов рыб, нанося рыбоводной отрасли серьезный ущерб.

Авторами разработан новый препарат, предназначенный для борьбы против диплостомозов у рыб, получивший название «Диплоцид». «Диплоцид» можно применять для борьбы против диплостомозов рыб различными способами: путем скармливания в составе лечебного гранулированного комбикорма, методом лечебных ванн. Эти способы нацелены на уничтожение метацеркарий в хрусталиках глаз, а также церкарий, совершающих в данный момент миграцию в теле рыбы. При этом уже через 2 суток после применения препарата при компрессионной микроскопии хрусталиков глаз можно наблюдать неподвижные, погибшие личинки паразита, отдельные экземпляры – деформированные, начинающие распадаться на фрагменты.

Препарат можно применять также для обработки прудов, внося

непосредственно в воду прибрежной зоны, где наблюдается скопление моллюсков. При этом «Диплоцид» не вредит непосредственно моллюскам; он уничтожает свободноплавающие церкарии диплостоматид, а также, как показали эксперименты, убивает спороцисты и рении, паразитирующие в организме моллюска.

Препарат «Диплоцид» не обладает острой и хронической токсичностью для рыб как в терапевтической дозе, так и в дозах, превышающих ее в 2,5-25 раз.

«Диплоцид» успешно прошел производственные испытания в трех рыбоводных организациях республики. Разработаны и утверждены в установленном порядке нормативные документы на его производство и применение.

Список использованных источников:

1. Ракконен Р., Веннистрем П., Ринтамяки-Киннунен П. Здоровая рыба. Профилактика, диагностика и лечение болезней. – Хельсинки, НИИ охотничьего и рыбного хозяйства, 2003. – С. 75-76.
2. Казарникова А.В., Шестаковская Е.В. Основные заболевания осетровых рыб в аквакультуре. – М.: Изд-во ВНИРО, 2005. – С. 56-57.
3. Евсеева Н.В. Ихтиопатологические исследования в форелевых хозяйствах Карелии // Проблемы воспроизводства, кормления и борьбы с болезнями рыб при выращивании в искусственных условиях. Материалы научной конференции 14-18 октября 2002 г. – Петрозаводск: Изд-во Петрозаводского госуниверситета, 2002. – С. 134-135.
4. Ихтиопатология / Головина Н.А., Стрелков Ю.А., Воронин В.Н. и др. – М.: Мир, 2003. – С. 314-319.
5. Соусь С.М. Диплостомоз рыб в Чановском озерном хозяйстве // Современное состояние водных биоресурсов: Материалы 2-ой международной конференции. Новосибирск 2010. – С. 280.
6. Mitchell C. G. Diplostomum Aquaculture Information series № 17. – 1996. – 6 pg.

7. Шигин А.А. Трематоды фауны России и сопредельных регионов. Род *Diplostomum*. Метацеркарии. М.: "Наука", 1986. – 253 с.

8. Методические указания по определению возбудителей диплостомозов пресноводных рыб, утв. Минсельхозпродом РФ 22.09.98. – М., 1998. – 4 с.

9. Методические указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве: Утв. Гл. упр. вет. 23.08.88 / М-во сельхозпрода СССР. – М., 1988. – С. 18.