

Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова
Биологический факультет

Летняя практика магистров по курсу «Частная паразитология»

Преподаватель: д.б.н. Н.М. Бисерова

Руководители практики:
д.б.н. Н.М. Бисерова, МГУ им. М.В. Ломоносова
к.б.н. Л.Г. Поддубная, ИБВВ РАН им. И.Д. Папанина

Отчет магистров
кафедры зоологии беспозвоночных
А.Р. Мустафиной и Е.В. Надуваевой

2016

Место проведения практики:

- Институт биологии внутренних вод РАН им. И.Д. Папанина в поселке Борок, Ярославской области.
- Поселок Борок находится на берегу Рыбинского водохранилища, и большая часть исследований института посвящена изучению этого водоема.



Место проведения практики



Краткие сведения о Рыбинском водохранилище

- Рыбинское водохранилище – один из наиболее обширных искусственных водоемов. Образовано в конце 1930-х — начале 1940-х годов. В него впадает 64 реки, из них 3 основные – Волга, Молога и Шексна.
- В Рыбинском водохранилище обитает 33 вида рыб, относящихся к 10 семействам. Самые массовые виды – лещ, плотва и синец.
- За ними следуют по своему значению в промысле судак, щука, окунь, а из рыб, не используемых промыслом, – снеток, ерш, густера, укляя, ряпушка.
- Паразитофауна рыб Рыбинского водохранилища формировалась за счет паразитов, обитавших в рыбах рек, образовавших этот искусственный водоем.
- В рыбах данного региона находят эктопаразитов (ракообразные, пиявки) и эндопаразитов (нематоды, скребни, миксоспоридии, трематоды, цестоды).



Паразитологическая практика проходила на базе лаборатории экологической паразитологии ИБВВ РАН им. И.Д. Папанина в поселке Борок.

Цели и задачи

- Изучение паразитофауны промысловых рыб Рыбинского водохранилища.
- Обучение методике паразитологического вскрытия и приготовления тотальных препаратов паразитических животных.
- Изучение паразитов с помощью методов световой и электронной микроскопии.



Полное паразитологическое вскрытие промысловых рыб

Методика окрашивания тотальных препаратов

- Собранных паразитов фиксировали 70% спиртом или 4% формалином. После формалиновой фиксации объект отмывали в нескольких сменах воды перед окрашиванием.
- Плоских паразитических червей окрашивали уксуснокислым кармином или квасцовым кармином, дифференцировали в солянокислом спирте; далее проводили в спиртах восходящей концентрации, затем просветляли в ди-метилфтолате и заключали в канадский бальзам.
- Ракообразных из фиксатора сразу заключали в глицерин-желатин и окантовывали бальзамом, парафином или лаком.
- Нематод фиксируют в формалине или в жидкости Барбагалло; просветляют в молочной кислоте. Просматривают в глицерин-желатине, но хранят в формалине.



Выявление и сбор паразитических животных

Методика окрашивания тотальных препаратов

- Для окрашивания паразитов были опробованы различные комбинации фиксаторов и красителей.
- Для достижения наиболее оптимального результата при окраске паразитических червей лучше использовать 70% спирт или формалин в сочетании с уксусно-красным кармином.
- Критически важно время нахождения объекта в красителе: все структуры должны быть различимы, но в то же время животное должно оставаться проницаемым для света при дальнейшем микроскопировании.
- Ракообразных лучше фиксировать в 4% формалине, чем в спирте, поскольку спирт вытягивает слишком много воды из тканей.

Результаты

- Были исследованы следующие виды рыб: лещ (5 шт.), подлещик (1 шт.), окунь (3 шт.), синец (1 шт.), язь (2 шт.), плотва (4 шт.), густера (2 шт.).
- В результате паразитологического обследования были обнаружены следующие группы паразитов: **эндопаразиты Cestoda, Trematoda, Nematoda**, **эктопаразиты Monogenea, Hirudinea, Crustacea** .



Паразитофауна промысловых рыб Рыбинского водохранилища, сборы - июль 2016г.

Вид паразита	Хозяин	Локализация	Количество
<i>Diplostomum spathaceum</i> (Кл. Trematoda)	Окунь (<i>Perca fluviatilis</i>)	Глаза	15 шт. в 3 лещах
<i>Cariophyllaeus laticeps</i> (Кл. Cestoda)	Лещ (<i>Abramis brama</i>)	Кишечник	26 шт. в 2 окунях
<i>Dactylogyrus chranilowi</i> (Кл. Monogenea)	Синец (<i>Abramis ballerus</i>)	Жабры	6 шт. на 1 синце
<i>Piscicola geometra</i> (Кл. Hirudinea)	Лещ, подлещик (<i>Abramis brama</i>)	Жабры	12 шт. на 4 рыбах
<i>Ergasilus briani</i> (Кл. Crustacea)	Язь (<i>Leuciscus idus</i>), лещ, подлещик (<i>Abramis brama</i>)	Жабры	>40 на 5 рыбах
Нематода	окунь	кишечник	1 шт

Piscicola geometra (Hirudinea: Piscicolidae)

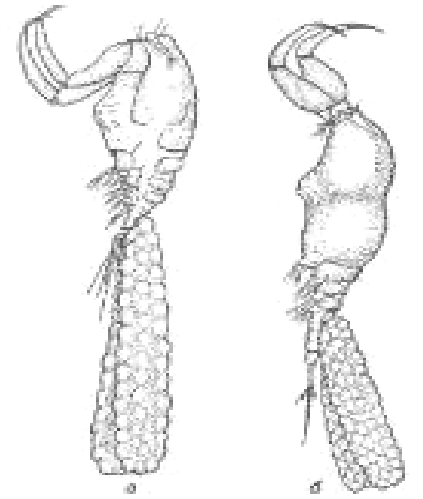
- Тело цилиндрическое, длина до 35 мм, ширина до 3 мм. На переднем конце есть присоска с двумя парами глаз. Задний конец тела так же снабжен присоской с радиальными пигментными полосками, между которыми расположены глазоподобные пятна. Окраска варьирует в зависимости от окраски тела хозяина.
- Развитие пиявок прямое. Летом пиявка откладывает коконы на дно водоема. Во второй половине лета из кокона выходят молодые пиявки, которые нападают на рыбу.
- Вызывают писциколёз.
- Эктопаразит; найден в Рыбинском водохранилище на жабрах леща.



Ergasilus briani (Crustacea: Ergasilidae)

- У самок имеется 2 яйцевых мешка, в каждом из них по 18-20 яиц. Науплиусы свободно плавают и через 1-2 дня линяют. Всего имеется 3 науплиальных и 5 копеподитных стадий, циклопидные самка и самец.
- Самки заносятся с водой в жаберную полость, на жаберные лепестки, и закрепляются при помощи антенн. Питаются жаберной тканью и кровью хозяина.
- Вызывает эргазилёз.
- Эктопаразит; найден в Рыбинском водохранилище на жабрах язя, подлещика и леща.

Ergasilus briani
(препарат хранится на кафедре зоологии беспозвоночных МГУ)



Самка с 2 яйцевыми мешками

Dactylogyrus chranilowi (Monogenea: Dactylogiridae)

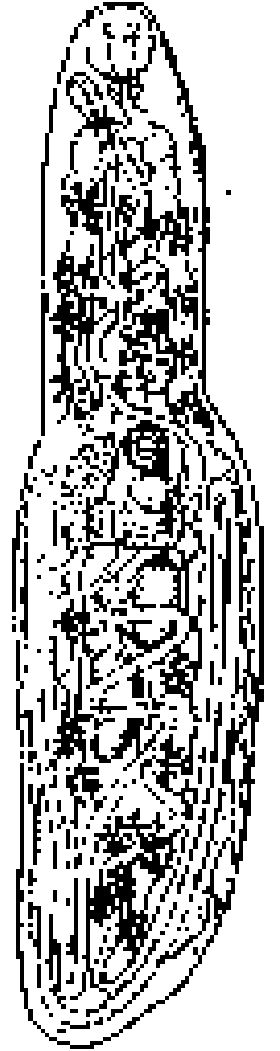
- Встречается на жаберных лепестках рыб.
- Прикрепительный диск вооружен 7 парами краевых крючьев, одной парой соединительных и одной-двумя пластинками. Срединные крючья ориентированы острием на спинную сторону диска. Пластинок чаще 2, реже 1.
- Трубка копулятивного органа длиной не более 0,055 мм по изгибу ее весьма распрямленной спирали. Ее начальное расширение обычно с полукруглым гребнем. Вагинальное вооружение в виде двух пузырей, соединенных короткой трубкой, длиной не более 0,020 мм.
- Вызывает дактилогироз, в частности карпа и сазана.
- Эктопаразит; найден в Рыбинском водохранилище найден на жабрах синца.



Pneumonoeces variegatus (Trematoda: Plagiorchiidae)



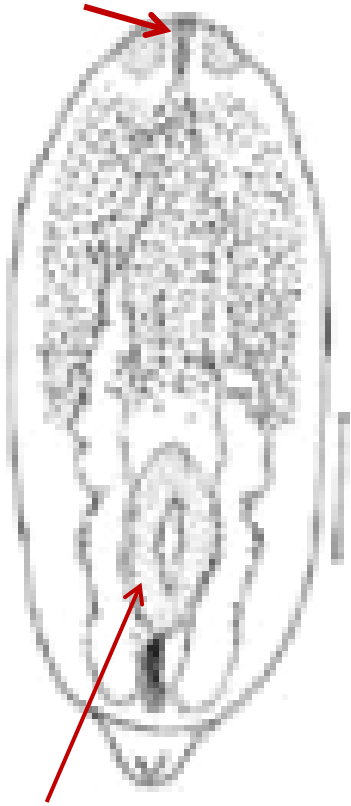
- Тело с четко выраженным сужением в передней части и закругленное в задней части; оно достигает 10,0 мм длины при ширине 1,0—1,7 мм.
- Ротовая присоска расположена субтерминально, достигает 0,438—0,478 мм. Брюшная присоска расположена на уровне перехода узкой передней части тела в широкую заднюю; ее размер 0,340 X 0,335 мм.
- Семенники удлинненно-овальной формы, цельнокрайные, расположены наискось один позади другого примерно в третьей четверти длины тела.
- Яичник и семяприемник располагаются позади брюшной присоски; их размеры меньше семенников. Половое отверстие находится на уровне фаринкса.
- Жизненный цикл: промежуточным хозяином служит моллюск *Planorbis vortex*, взрослые паразиты обитают в легких амфибий рода *Rana*, *Bombina*, *Bufo* и др.



Pneumonoeces variegatus, окраска уксусно-красный кармин;
(препарат хранится на кафедре зоологии беспозвоночных МГУ)

Diplostomum spathaceum (Trematoda: Diplostomatidae)

Ротовая присоска



- Метациркарии локализуются в хрусталике, стекловидном теле и между склерой и ретиной.
- Тело метациркарии овальное, прозрачное, до 0,5 мм. От ротовой присоски на переднем конце тела отходят 2 слепых ветви кишечника.
- Жизненный цикл: первый промежуточный хозяин – моллюск сем. Limnaeidae, далее личинки паразитируют в глазах рыб, вызывая паразитическую катаракту. Взрослые паразиты обитают в кишечнике рыбоядных птиц (чаще чайковых, реже уток). Вызывает диплостомоз.

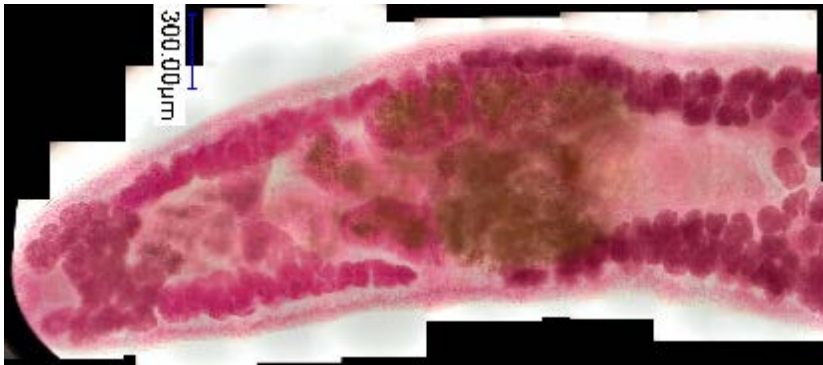
Брюшная присоска



Метациркария *Diplostomum spathaceum*, эндопаразит; найден в Рыбинском водохранилище в глазах окуня. Окраска квасцовый кармин (препарат хранится на кафедре зоологии беспозвоночных МГУ).



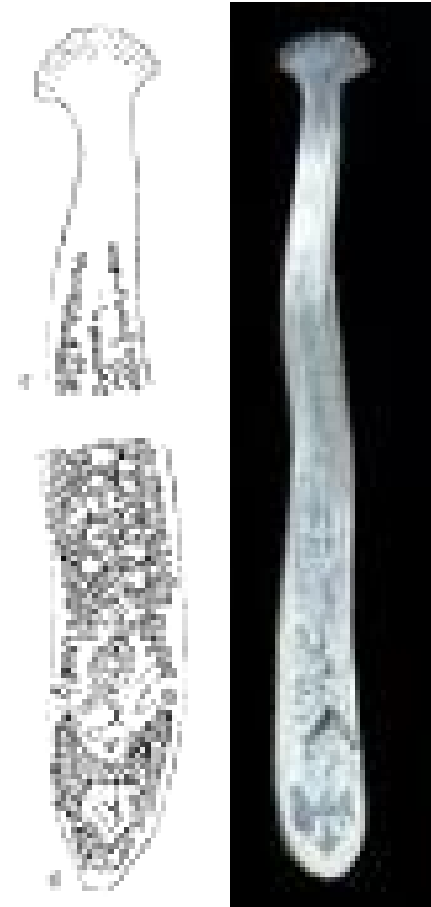
Сколекс в виде розетки, шейка – зона роста, передний конец тела



Задний конец тела: желточники, яичник, матка с яйцами

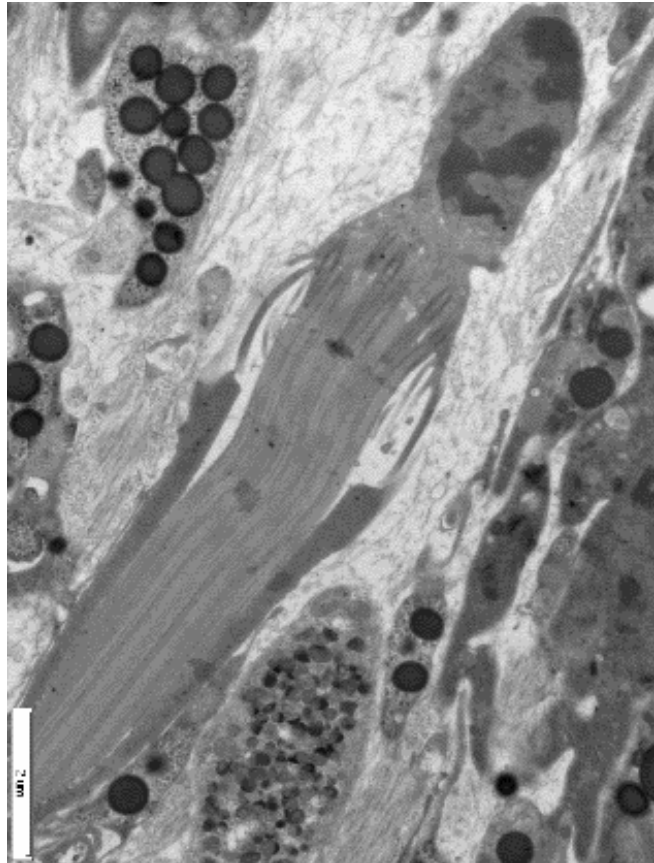
Caryophyllaeus laticeps (Cestoda: Caryophyllidea)

- Тело нечленистое, белое, длиной 15-25 мм и шириной 1-1,5 мм. Желточники лежат сразу за сколексом. Семенники несколько позади желточников. Матка образует петли, не заходящие за передний край сумки цирруса.
- Жизненный цикл: промежуточный хозяин – олигохета *Tubifex tubifex* или *Psammorictes albicola*. Окончательный хозяин – лещ.
- В кишечнике рыб становятся половозрелыми через 1,5 – 2 месяца, живут 1 год.
- Вызывает кариофиллёз



Caryophyllaeus laticeps: был найден в кишечнике леща; окраска уксусно-красным кармином; препарат хранится на кафедре зоологии беспозвоночных МГУ.

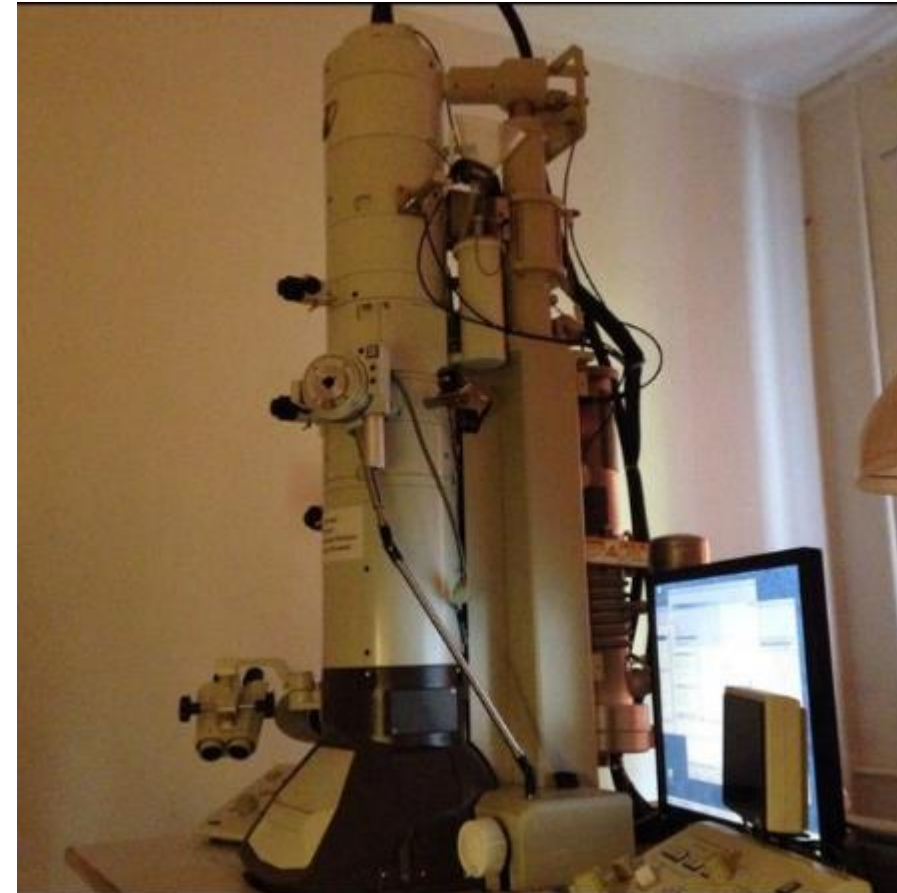
Исследование ультраструктуры паразитов



Циротцит на поперечном срезе плероцеркоида *Pyramicosephalus phocarum* (Cestoda: Diphyllbothriidea)

Так же мы изучали паразитов на ультраструктурном уровне. На примере плероцеркоида *Pyramicosephalus phocarum* мы изучили строение тегумента, выделительной системы, нервной системы и пр. В ходе практики мы научились:

- методике приготовления препаратов для электронной микроскопии
- технике безопасности работы на микроскопе и особенности его тонкой настройки
- правильной интерпретации полученных результатов



Трансмиссионный электронный микроскоп JEM 1011 (Лаборатория электронной микроскопии, ИБВВ РАН)

Благодарности

- Кафедра зоологии беспозвоночных биологического факультета МГУ выражает глубокую благодарность сотрудникам лаборатории экологической паразитологии, лаборатории экологии рыб и лаборатории электронной микроскопии Института биологии внутренних вод РАН им. И. Д. Папанина за предоставленную возможность проведения летней практики магистрам.
- Особая благодарность заведующему лабораторией А.Е. Жохову, сотрудникам Л.Г. Поддубной, Ж.В. Корневой, Г.И. Извековой за обучение, помощь в сборе материала и подготовке коллекционных препаратов
- Искренняя благодарность заведующему Центром коллективного пользования электронной микроскопии С.И. Метелеву за счастливую возможность работы на просвечивающем на электронном микроскопе.