

ИНВАЗИРОВАННОСТЬ И ФОРМЫ РАЗВИТИЯ ТРЕХ ВИДОВ БАБЕЗИЙ И ПИРОПЛАЗМИД (PIROPLASMIDA) В ЯЙЦАХ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ

К. Д. Мирзабеков

Азербайджанский научно-исследовательский ветеринарный институт, Баку

Описаны формы развития *B. colchica* и *P. bigeminum* в яйцах клещей *B. calcaratus* и *P. beliceri* в яйцах *H. anatolicum*. Паразиты отличаются по морфологическим признакам, что дает возможность различать *B. colchica* и *P. bigeminum*. Возбудители размножаются почкованием, простым и множественным делением.

Существует значительное количество публикаций о развитии нескольких видов нироплазмид и бабезий в организме их переносчиков — иксодовых клещей (Петров, 1939; Вечеркин и Есиков, 1956; Муратов и Хейсин, 1959; Абрамов и Дьяконов, 1974; Riek, 1966, 1969). Однако формы развития этих паразитов в яйцах клещей исследованы недостаточно, а для некоторых видов (*B. colchica*) вообще неизвестны.

Наши исследования проведены с целью установления форм развития *B. colchica* в яйцах клещей *B. calcaratus*, сравнительного изучения морфологии и развития *B. colchica* и *P. bigeminum* в яйцах *B. calcaratus* и *P. beliceri* в яйцах *H. anatolicum*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа проведена в лаборатории протозоологии и арахнологии Всесоюзного института экспериментальной ветеринарии (ВИЭВ).

В опытах использовали два вида инвазированных клещей:

1) *Boophilus calcaratus* Virula, 1895 — инвазированные *P. bigeminum* или *B. colchica* из Азербайджанской ССР, Узбекской ССР и Дагестанской АССР; 2) *Hyalomma anatolicum* Koch, 1844 — инвазированные *P. beliceri* — из культуры лаборатории протозоологии и арахнологии ВИЭВ.¹

Для определения зараженности и форм развития паразитов из яиц 98 самок обоих видов приготовили 360 мазков. Личинки *B. calcaratus* и имаго *H. anatolicum* были подсажены на молодняк крупного рогатого скота для питания.

Отпавших упитанных самок клещей, инвазированных каждым видом возбудителя, разделили на 3 группы (по 10—15 экз.), и отложенные этими самками яйца исследовали соответственно в трех вариантах. 1. Отложенные яйца I группы *B. calcaratus* и *H. anatolicum* ежедневно в течение всей яйцекладки полностью отделяли от самок и готовили препараты для исследования. 2. Из инкубированных яиц II группы клещей начиная с 5-го дня инкубации ежедневно до выхода личинок готовили мазки и исследовали их, чтобы установить интенсивность инвазии и изучить

¹ В лаборатории протозоологии и арахнологии ВИЭВ получена 8-я генерация клещей *H. anatolicum*, которые питались только на кроликах.

формы развития возбудителей в процессе эмбрионального развития клещей. 3. Из яиц III группы клещей по 2—3 раза готовили мазки с интервалом в 3 дня с начала до конца завершения яйцекладки. Вышедших личинок из остальной порции яиц подсаживали на восприимчивых животных для биопробы.

Для приготовления мазков на обезжиренное предметное стекло помещали порцию яиц (20—25 шт.). Шпателем яйца раздавливали и слегка растирали в виде кружочка на стекле. Мазки через сутки фиксировали метиловым спиртом и окрашивали аzur-эозином по Романовскому. Измерения вели в микроскопе МББ-1 (объектив $\times 90$, окуляр $\times 10$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

B. colchica. В мазках из свежееотложенных яиц I группы клещей *B. calcaratus* возбудитель бабезиоза обнаружен лишь на 3—4-й день откладки и в последующие 5—6 дней у 70—80% обследованных самок. За 3—4 дня до конца яйцекладки возбудитель в свежееотложенных яйцах не найден. В мазках, приготовленных из инкубированных яиц II группы, собранных за первые 3—4 дня яйцекладки, при ежедневном исследовании их до выхода личинок, возбудителя обнаруживали с 5-го дня после начала откладки и в дальнейшем наблюдали в течение 20—23 дней, а за последние 5—7 дней до выхода личинок не находили.

В исследованных мазках из 3 групп клещей пораженность яиц возбудителем не одинакова — от 1—3 паразитов в 200 полях зрения до 20—30 в 100 полях зрения. Наблюдали сигаровидные, округлые, амёбовидные, грушевидные, овальные и палочковидные формы возбудителя, но чаще — сигаровидные. Размеры сигаровидных форм колебались в длину от 2.6 до 5.5 мкм при ширине 0.9—2.3 мкм. С 3—4 дня инкубации в мазках обнаружили возбудителя сигаровидной формы как с 1, так и с 2 ядрами. У 1-ядерных паразитов ядро располагается в центре или смещено к одному из краев, у двуядерных — по полюсам (по самому краю), а в редких случаях парные ядра располагались в середине клетки на некотором расстоянии друг от друга или были соединены. Наличие двуядерных форм указывает на размножение бабезий в яйцах путем простого деления. У сигаровидных форм один конец тупой, а другой всегда заострен.

Наблюдаемые в мазках округлые формы были с одним крупным ядром, занимающим $\frac{1}{3}$ цитоплазмы и располагавшимся центрально или периферически, а также с двумя ядрами, которые находились на некотором расстоянии друг от друга или были в стадии деления. Размеры округлых форм 1.6—2.9 мкм.

В одном случае был обнаружен паразит червеобразной формы 4.6×1.4 мкм, имеющий два ядра. Такая форма описана у *P. bigeminum* при исследовании эпителиальных клеток кишечника клеща многими авторами (Riek, 1966, и др.).

Помимо деления на два, на 7-й—10-й день яйцекладки наблюдали размножение бабезий почкованием и множественным делением. Встречали скопления из 3—5 возбудителей, имеющих грушевидные формы размером 1.5—2 мкм. Они соединялись в виде буквы П или кольца.

На 20-й—23-й день от начала яйцекладки в мазках установлены пизонты размером 3—7 мкм с 12—25 мелкими ядрами. Обнаружен возбудитель амёбовидной формы с двумя заостренными и одним тупым отростками, в каждом из которых находилось по 1 ядру, а также сигаровидная форма с 3 ядрами — 1 в центре и 2 по краям паразита. У некоторых особей наблюдали выступы цитоплазмы различной длины. Цитоплазма окрашивалась в нежно-голубой цвет, а ядро — от розовато-фиолетового до темно-синего цвета.

P. bigeminum. В препаратах из яиц *B. calcaratus* пироплазмы обнаруживались с 1-го дня инкубации и до выхода личинок (25—30 дней). В последние дни инкубирования яиц возбудители обнаруживались

реже, чем в начале. В яйцах, инкубированных в первые 4 дня, находили в основном сигаровидные формы размером $4.8-12.0 \times 2.1-2.8$ мкм. Вокруг ядра образуется вакуоль (светлая перинуклеарная зона). В последующие дни часто встречались амебовидные формы возбудителя размером $3.8-5.2 \times 1.9-2.7$ мкм, реже паразиты грушевидной формы раз-

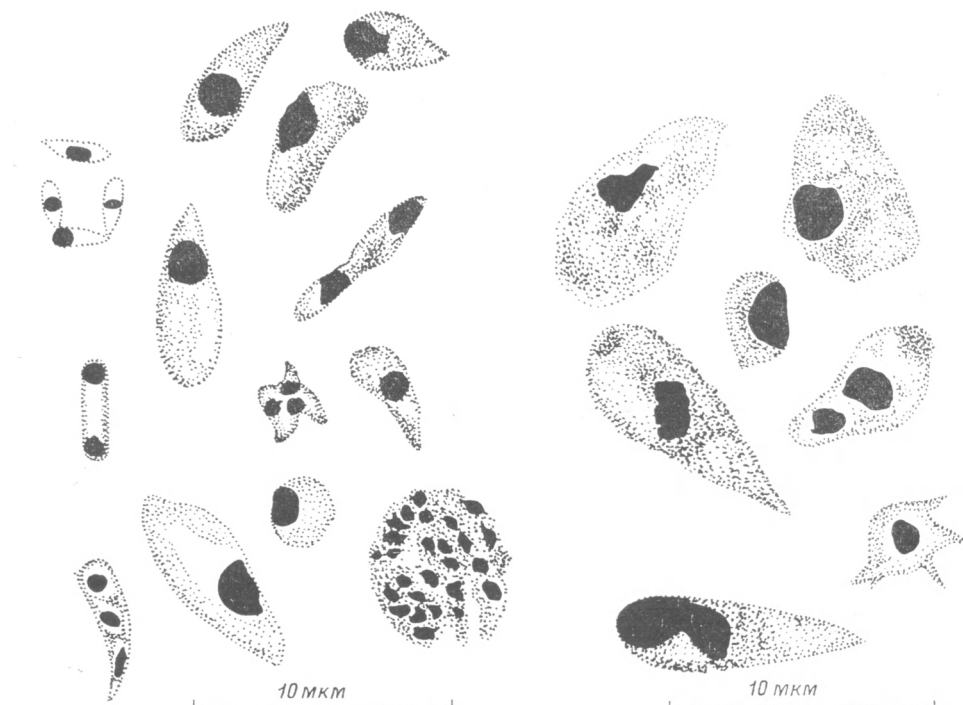


Рис. 1. Формы *B. colchica* в яйцах *B. calcaratus*.

Рис. 2. Формы *P. bigeminum* в яйцах *B. calcaratus*.

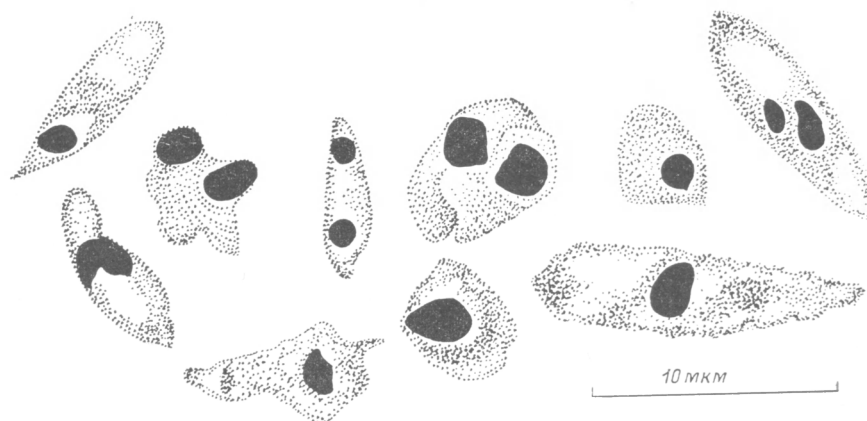


Рис. 3. Формы *P. beliceri* в яйцах *H. anatolicum*.

мером $3.6-6.3 \times 1.8-2.8$ мкм и округлой формы — $3.2-4.1$ мкм. Отмечены многоядерные паразиты (от 12 до 20 ядер) неправильной формы, размеры которых достигали $10-16$ мкм. Эти стадии множественного деления встречались чаще в первые дни инкубации. Очень редко обнаруживали сигаровидные формы с двумя крупными ядрами, расположенными по полюсам возбудителя. У некоторых форм имелись тонкие цитоплазматические выступы. С 1-го дня инкубации отмечали формы двойного де-

ления и почкования на 2—4 особи. На 8-й—11-й день чаще встречались шизонты с 4—6 ядрами.

P. beliceri. В яйцах клещей *H. anatolicum* установлено многообразие форм пироплазм (*P. beliceri*) с 1-го дня инкубации яиц и до выхода личинок. Интенсивность поражения яиц составляла 1—3 паразита в одном поле зрения. В первые дни инкубации в большинстве случаев обнаруживали сигаровидные и реже червеобразные формы возбудителя. В последующие дни наряду с сигаровидными встречались округлые, амёбовидные, грушевидные и делящиеся формы (2-, 4- и многоядерные шизонты — до 20—25 ядер). У сигаровидных форм ядра обычно расположены в середине, редко у закругленного конца тела. У 2-ядерных сигаровидных форм ядра располагались на некотором расстоянии друг от друга по середине, в редких случаях по полюсам клетки. Ядра крупные. Окрашиваются в темно-фиолетовый цвет. Цитоплазма неокрашена или окрашена в нежно-голубой цвет. Размеры различных форм возбудителя следующие: грушевидные — $4.5-6.6 \times 2.4-3.6$ мкм, округлые — $3.4-3.6$, амёбовидные — $3.8-4.6 \times 1.7-2.4$ и сигаровидные — $4.1-11.2 \times 1.5-2.8$ мкм.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

О развитии в организме клещей *B. colchica* широко распространенных паразитов крупного рогатого скота нет никаких сообщений, хотя некоторыми исследователями были сделаны попытки установления форм развития бабезий в яйцах инвазированных клещей. Это, видимо, объясняется тем, что некоторые виды пироплазмид, как *P. bigeminum* и др., в процессе развития паразитируют в большем числе и продолжительней, а поэтому легче обнаруживаются, тогда как другие встречаются редко и короткий период, в связи с чем трудноуловимы.

В яйцах клещей *B. calcaratus* наблюдали мелких бабезий сигаровидной, округлой, амёбовидной, грушевидной, овальной и палочковидной форм. В первые дни инкубации яиц и за несколько дней до выхода личинок паразитов не обнаруживали. Надо полагать, что в первые и последние дни инкубации паразиты в яйцах существуют в таком виде, что их нельзя обнаружить обычными методами исследования. Абрамов и Степанова (1952) в яйцах клеща *Rhipicephalus bursa* обнаружили возбудителя бабезиоза овец только с 8—10-го дня начала яйцекладки.

В яйцах клещей бабезии помимо простого деления размножаются путем шизогонии. При этом наблюдали шизонтов, состоящих из 12—25 мелких ядер, и шизонтов, распадающихся на 3—5 грушевидных форм длиной около 1.5—2 мкм. Полянский и Хейсин (1959) у *B. bovis* также установили в результате шизогонии образование мелких грушевидных форм.

Следовательно, обнаружение шизонтов в яйцах клещей *B. calcaratus* дает нам основание рекомендовать исследование их на *B. colchica* с целью диагностики и определения эпизоотического состояния территории.

Полученные нами результаты по исследованию яиц клещей *B. calcaratus* на *P. bigeminum* аналогичны данным исследователей изучавших развитие пироплазм в органах и яйцах клещей этого же вида. Формы развития *P. bigeminum* в яйцах клещей, как показали наши исследования, сходны с *B. colchica*. Однако в отличие от бабезий пироплазмы обнаруживаются с 1-го дня инкубации яиц до выхода личинок, в то время как бабезии установлены лишь с 3—4-го дня откладки яиц и до 5—7-го дня перед выходом личинок. Помимо этого различные формы пироплазм в препаратах из яиц по размерам значительно превосходят бабезии (см. таблицу). Указанные отличительные признаки имеют весьма важное значение в дифференциации *B. colchica* и *P. bigeminum* в яйцах клещей, если учесть то, что оба паразита передаются одним видом клеща — *B. calcaratus*.

При исследовании яиц клещей *H. anatolicum* на *P. beliceri* установлено некоторое сходство этого паразита с *P. bigeminum* как по размерам раз-

Сравнительная морфология пироплазмид в яйцах клещей (размеры в мкм)

Морфологические формы	<i>Piroplasma bigeminum</i>	<i>Piroplasma beliceri</i>	<i>Babesia colchica</i>
Грушевидные	3.6—6.3×1.8—2.8	4.5—6.6×2.4—3.6	2.0—3.6×0.6—1.9
Округлые	3.2—4.1	3.4—3.6	1.6—2.9
Амебовидные	3.8—5.2×1.9—2.7	3.8—4.6×1.7—2.4	2.1—3.6×1.3—2.6
Сигаровидные	4.8—12.0×2.1—2.8	4.1—11.3×1.5—2.8	2.6—5.5×0.9—2.3

личных форм, так и по развитию. Оба вида обнаруживаются с 1-го дня инкубации яиц до выхода личинок. Результаты наших исследований по развитию *P. beliceri* в яйцах клещей *H. anatolicum* совпадают с данными Дьяконова (1972), Абрамова и Дьяконова (1974).

ВЫВОДЫ

1. В яйцах клещей *B. calcaratus* установлены формы развития *B. colchica*. Последние обнаруживаются с 5-го по 23-й день. В первые 3 дня инкубации яиц и за 7 дней до выхода личинок паразиты не обнаружены.

2. Бабезии в яйцах клещей имеют сигаровидную, округлую, амебовидную, овальную, грушевидную и палочковидную формы.

3. Размеры *B. colchica* в яйцах значительно меньше *P. bigeminum* и *P. beliceri*, это дает возможность для дифференциации бабезий от пироплазм.

4. *P. bigeminum* в яйцах клещей *B. calcaratus* и *P. beliceri* у *H. anatolicum* обнаруживаются с 1-го дня откладки яиц и весь период инкубации до выхода личинок. Формы и размеры пироплазм сходны.

5. *B. colchica*, *P. bigeminum*, *P. beliceri* в яйцах клещей размножаются бинарно, почкованием и множественным делением.

Л и т е р а т у р а

- А б р а м о в И. В., Дьяконов Л. П. 1974. Изучение нового вида пироплазм (*Piroplasma beliceri*), передающихся трансвариально клещами *Hyalomma anatolicum*, Бюлл. ВИЭВ (18) Ветеринарная протозоология и арахнология, М.: 10—14.
- А б р а м о в И. В., Степанова Н. И. 1952. Обнаружение гемоспоридий в яйцах клещей *Rhipicerphalus bursa*, Тр. ВИЭВ, 19 (2): 56—58.
- В е ч е р к и н С. С., Е с и к о в В. И. 1956. Возбудители гемоспорициозов крупного рогатого скота в клещах *Boophilus calcaratus*. Тр. инст. зоолог. и паразитолог. АН КиргССР, 5: 129—134.
- Дьяконов Л. П. 1972. Биологические особенности, ультраструктура и вопросы таксономии кровепаразитов рогатого скота. Автореф. докт. дисс. М.: 1—32.
- М у р а т о в Е. А., Хейсин Е. М. 1959. Развитие *Piroplasma bigeminum* в клещах *Boophilus calcaratus*, Зоолог. журн., 38 (7): 970—984.
- П е т р о в В. Г. 1939. К вопросу о развитии *Babesia bovis* в организме клещей *Ixodes ricinus*. Тр. Ленингр. пироплазмозной станции, 1: 58—65.
- П о л я н с к и й Ю. И., Хейсин Е. М. 1959. Исследование цикла развития *Babesia bovis* в клеще *Ixodes ricinus*, Изв. Карельск. фил. АН СССР, 14: 5—13.
- R i e k R. F. 1966. The life cycle of *B. bigemina* (Lignieres, 1903) sporozoa: Piroplasmidea in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini), Austral. J. Agric. Res., 17 (2): 247.
- R i e k R. F. 1969. Жизненный цикл видов *Babesia* в клещах-переносчиках, Усп. протозоолог. III Междунар. конгр. протозоологии, Л.: 297.

THE INVASION RATE AND DEVELOPMENTAL FORMS
OF THREE BABESIA SPECIES AND PIROPLASMIDS (PIROPLASMIDA)
IN EGGS OF IXODID TICKS

K. D. Mirzabekov

S U M M A R Y

The paper presents the materials on the identification and study of the developmental forms and morphology of *B. colchica* and *P. bigeminum* in eggs of *Hyalomma anatolicum*. The description of developmental forms of *B. colchica* in eggs of *Boophilus calcaratus* is given for the first time.

P. bigeminum and *P. beliceri* were detected in eggs of *B. calcaratus* and *H. anatolicum* from the first day of egg production up to the emergence of larvae while *B. colchica* was found beginning from the 4th—5th day of egg production up to the 5th—7th day before larvae emergence. The invasion rate of eggs of *B. colchica* is considerably smaller than that of *B. bigeminum* and *P. beliceri*.

In piroplasmids and babesians there were observed sigar—like, roundish, amoeba-, pear-, rod-shaped and oval forms. Some individuals of piroplasmids had projections of cytoplasm of different size. Individuals of *B. colchica* are smaller than those of *P. bigeminum* and *P. beliceri* that enables an easy differentiation of babesians from piroplasmids.
