

МОДИФИКАЦИЯ ОБЫЧНОГО СПОСОБА ВЫЯВЛЕНИЯ ЗАРАЖЕННОСТИ ЛИЧИНОК МОШЕК (SIMULIIDAE) МИКРОСПОРИДИЯМИ

В. У. Митрохин

Всесоюзный научно-исследовательский институт ветеринарной энтомологии
и арахнологии, Тюмень

Личинки *Simulium morsitans* Edw., *Simulium* sp., *Schonbaueria pusilla* Fries при температуре воды 1—4° замедляют развитие, а находящиеся в них микроспоридии развиваются и приступают к спорообразованию, что можно использовать для диагностики скрытых форм микроспориоза. После выдерживания личинок при температуре воды 1—4° в течение 8 суток показатели зараженности их микроспоридиями становятся в 2.5—3 раза выше по сравнению с исследованием в день сбора.

Паразитические простейшие отряда *Microsporidia* привлекают к себе внимание исследователей как перспективные агенты биологической борьбы с кровососущими двукрыльями. Это обусловлено их энтомопатогенностью, высокой способностью к размножению и длительному сохранению спор во внешней среде (Рубцов, 1965, 1966).

Широко используемый способ определения зараженности личинок мошек микроспоридиями заключается в выделении из пробы особей с серовато-белой окраской заднего конца тела и последующим исследованием их под микроскопом на наличие спор (Вейзер, 1972, 1974). Однако этот способ не выявляет заражения личинок мошек микроспоридиями на ранней стадии, когда в их тканях не произошли видимые изменения. Симптомы поражения микроспоридиями жирового тела, где обычно локализуется паразит, проявляются относительно поздно (Я. Вейзер, 1972). В результате зараженности популяции, определенная этим способом, оказывается ниже действительной.

Целью нашей работы было повышение точности определения зараженности личинок мошек микроспоридиями за счет выявления скрытых форм заболевания. Предпосылкой для этого послужили полученные нами данные о том, что после выдерживания проб в холодильнике при температуре воды 1—7° возрастает число личинок *Simulium morsitans*, *Simulium* sp., *Schonbaueria pusilla* с явными признаками микроспориоза. Известно, что личинки мошек заражаются при профильтровывании ими проточной воды со взвешенными в ней спорами микроспоридий (Я. Вейзер, 1972) и в условиях непроточной воды дополнительное заражение происходить не может. Поэтому увеличение числа личинок с выраженными признаками микроспориоза после вы-

держивания их при пониженной температуре воды (при отсутствии проточности) происходит за счет проявления скрытых форм заражения.

Наблюдения показывают, что личинки мошек сохраняют жизнеспособность более продолжительно и скрытые формы микроспориоза проявляются у них наиболее отчетливо при температуре 1—4° и при регулярной смене воды. В таких условиях число личинок с явными симптомами микроспориоза нарастает в течение 5—8 суток, а затем остается неизменным. Учитывая это, после исследования собранных личинок в день сбора рекомендуется выдерживать их в холодильнике-термостате при температуре 1—4° в течение 8 суток, повторно исследуя на 5-е и 8-е сутки. На период хранения в холодильнике личинок необходимо помещать в кюветы из расчета не более 3 тыс. особей на 1 дм² и заливать слоем воды около 0.5 см. Воду в кюветах рекомендуется менять через 48 ч. При таких условиях личинки мошек замедляют развитие, а микроспоридии, находящиеся в них, развиваются, приступают к спорообразованию, которое приводит к появлению четких симптомов заболевания. Последующее исследование под микроскопом пораженных участков на наличие спор и определение стадий их развития окончательно решает вопрос о заражении.

Стадии развития микроспориоза изучали на мазках, приготовленных из задней части тела личинки. После фиксации метиловым спиртом мазки окрашивали универсальным 1%-м красителем по методу Романовского-Гимза.

Личинки исследованы в августе—сентябре. В пробах преобладал вид *Simulium morsitans* (85—99%). 50—60% составляли личинки III и IV, 40—50% — I и II возрастов.¹ При просмотре проб в день сбора микроспоридии отмечены в основном у личинок III и IV, а после хранения проб в холодильнике они выявлялись чаще у личинок I и II возрастов.

Обнаруженные микроспоридии по форме (широкоовальные и яйцевидные), величине спор и числу спор в панспоробластах (50.2 ± 14.8 , 8.7 ± 2.4) отнесены к родам *Pleistophora* и *Thelohania* с размерами спор, характерными для видов *P. simulii* Lutzet Splendore ($3.1 \pm 0.2 \times 4.5 \pm 0.31$ мкм) и *Th. varians* Leger ($4 \pm 0.25 \times 6.7 \pm 0.29$ мкм). Личинки были поражены в основном видом *P. simulii*, вид *Th. varians* встречался у единичных экземпляров.

Дополнительное исследование личинок мошек после выдерживания в холодильнике-термостате позволило заключить, что зараженность их микроспориозом была в 2.5—3 раза выше по сравнению с таковой, определенной в день сбора (см. таблицу).

Эффективность двух способов исследования личинок мошек на зараженность микроспориозом

Способ исследования	Число проб	Число личинок в пробе	Зараженность, %		
			$M+m$	mt	$x \pm mt$
Просмотр: в день сбора	6	2000	0.68 ± 0.12	0.29	0.34 ± 0.92
после 5 и 8 суток содержания в холодильнике	6	2000	1.78 ± 0.22	0.56	1.2 ± 2.32
			2.04 ± 0.33	0.80	1.24 ± 2.84

Примечание. Числитель — результат исследования личинок через 5 сут, знаменатель — через 8 сут после выдерживания их в холодильнике.

Данные таблицы показывают, что разница в степени зараженности личинок мошек микроспориозом при исследовании их в день сбора и через 5 и 8 суток содержания их при низких температурах воды достоверна. Следовательно, это различие обусловлено влиянием пониженной температуры воды прежде всего на личинок мошек, которые при таких условиях замедляют развитие, и носит закономерный характер. Не исключено также, что температура воды ниже оптимума для развития личинок снижает их защитную реакцию и способствует проявлению скрытых форм микроспориоза. Известно, что наличие спор в организме насекомых не всегда вызывает за-

¹ Личинки подразделены по возрастам, по данным В. Н. Якуба (1961).

болевание и часть насекомых без видимых клинических проявлений микроспоридиоза завершает развитие. В экспериментальных условиях микроспоридиоз развивается у насекомых, когда в их организм поступает не менее 100 спор (И. В. Исси, 1968).

Использование рекомендуемого нами дополнительного исследования личинок мошек на зараженность микроспоридиями после выдерживания их в холодильнико-термостате повышает точность существующего способа определения, что дает возможность более эффективно вести изучение микроспоридий мошек.

Л и т е р а т у р а

- Вейзер Я. 1972. Микробиологические методы борьбы с вредными насекомыми. М. : 386—552.
- Вейзер Я. 1974. Методика диагностики протозойного заражения насекомых. В кн.: Биологические средства защиты растений. М. : 281—288.
- Исси И. В. 1968. Микроспоридии, регулирующие численность вредных насекомых. Тр. ВИЗР, 31 : 301—330.
- Рубцов И. А. 1965. Ранневесенняя и зимняя фауна мошек. Зоол. журн. 10 : 1488—1496.
- Рубцов И. А. 1966. Взаимные отношения хозяина и паразита (ответные реакции мошек на микроспоридии). Журн. общей биологии, 6 : 647—661.
- Якуба В. Н. 1961. Условия массового размножения мошек (сем. Simuliidae) в р. Ангаре. Автореф. дис. Новосибирск : 1—27.

MODIFICATION OF THE STANDART METHOD FOR BRINGING OUT THE INFECTION RATE OF BLACK FLIES LARVAE (SIMULIIDAE) WITH MICROSPORIDIANS

V. U. Mitrokhin

S U M M A R Y

At a water temperature of $+1$ to $+4^{\circ}$ black flies larvae and microsporidians from them develop asynchronously that can be used for the diagnostics of microsporidiosis. The infection rate of black flies larvae increases after their being maintained at a temperature of $+1$ to $+4^{\circ}$ during 8 days. This is 2.5—3 times higher as compared to the infection rate determined by the known method just after the sampling.
