

УДК 593.121:591.5(477.7)

О ВЫЖИВАЕМОСТИ ООЦИСТ КОКЦИДИЙ КРОЛИКОВ В УСЛОВИЯХ ЮГА УКРАИНЫ

А. Д. Тимченко

(Одесский медицинский институт)

Интенсивное заражение кроликов кокцидиями приводит к массовой гибели животных. Хроническая кокцидиозная инвазия вызывает патологические изменения в их организме, что мешает проведению экспериментальных исследований. При изучении жизненного цикла кокцидий важно установить сроки выживания ооцист во внешней среде, где происходит их споруляция. Соответствующие литературные данные (Левинсон, Федоров, 1936; Меликян, 1954; Крылов, 1959, 1960; Patterson, 1933; Horton-Smith, 1947; Faag a. Wehr, 1949 и др.) разноречивы. Это объясняется особенностями климатических, почвенных и других факторов местностей, где работали исследователи.

Сведений о подобных исследованиях в условиях юга Украины мы не нашли в доступной литературе. Поэтому мы поставили задачу изучить выживаемость неспорулированных и спорулированных ооцист кокцидий кроликов в условиях юга Украины в зимне-весеннее время при закладке их в почву на разные глубины.

Материал и методика

Использовали незрелые и спорулированные ооцисты кокцидий кролика. Ооцисты выделяли из свежих фекалий, собранных в течение двух часов. В таких фекалиях, как правило, содержались неспорулированные кокцидии. Спорулированные ооцисты получали из фекалий, предварительно выдержанных в течение 168 час. при температуре 20—22° С, свободном доступе кислорода и высокой влажности. После этого ооцисты кокцидий, главным образом *Eimeria magna*, *E. vtidas*, *E. irrisidua*, *E. perforans*, с развившимися спорами использовали для проведения опыта. Выделенные ооцисты помещали на предметные стекла с нанесенными черной тушью квадратиками 18×18 мм, что в значительной степени облегчало подсчет ооцист. (Методика, предложенная Л. М. Музыковским (1963) для закладки яиц гельминтов в почву, с нашей модификацией). Ооцисты кокцидий в количестве не менее 100—150 наносили на каждое предметное стекло со стороны противоположной той, на которой нанесены квадраты. Этим предотвращалась возможность размыва туши жидкостью с изучаемыми объектами. После подсчета ооцист предметные стекла помещали в ящички, изготовленные из узких полосочек нержавеющей стали. В конце ноября кокцидий закладывали в почву на территории Ботанического сада Одесского университета им. И. И. Мечникова. На поверхности почвы и на глубине 5—10—20—30 см размещали по 12 стекол с незрелыми и спорулированными ооцистами с таким расчетом, чтобы в конце каждого месяца брать для исследования по два стекла. Наблюдения вели в течение шести месяцев (декабрь — май).

Одновременно с закладкой в почву в лабораторных условиях проверяли способность к образованию спор незрелых ооцист, культивируя

их в 2%-ном растворе бихромата калия ($K_2Cr_2O_7$) при оптимальных условиях внешней среды.

Среди зимовавших неспорулированных кокцидий также определяли способность к споруляции после пяти-шестимесячного их пребывания во внешней среде. В ежемесячных пробах, взятых для исследования выживаемости неспорулированных и спорулированных ооцист в зимне-весенних условиях, проводили их количественный учет и определяли жизнеспособность по методу Л. Б. Левинсона и Б. Т. Федорова (1936), а также заражая экспериментальных животных. Дункан (Duncan, 1959) на примере кокцидий голубей указывает, что деформация ооцист еще не свидетельствует о их гибели. Окончательно установить их жизнеспособность можно только, заражая животных. Мы проверяли жизнеспособность ооцист на кроликах месячного возраста, предварительно проверенных на зараженность кокцидиями. Животным (брали шесть подопытных и шесть контрольных кроликов) вводили спорулированные ооцисты из каждого слоя почвы после шестимесячного пребывания их там. При этом делали все, чтобы исключить возможность спонтанного заражения экспериментальных животных кокцидиями. У подопытных и контрольных крольчат устанавливали длительность препатентного и патентного периода. Результаты наблюдений обрабатывали статистически по Л. С. Каминскому (1964). Одновременно изучали естественную выживаемость ооцист в зимне-весенний период. Для этого с аналогичных слоев почвы брали пробы в фекалиях кроликов на территории институтского вивария.

Результаты исследований

На основе полученных данных о выживаемости неспорулированных ооцист установлено, что в зимне-весеннее время в условиях юга Украины на поверхности почвы и на разных глубинах значительная часть неспорулированных ооцист гибнет. Так, из незрелых кокцидий, находившихся на поверхности почвы в течение зимне-весеннего периода, оказались жизнеспособными и спорулировало не более $1,1 \pm 0,6\%$. На глубине 5—10—20—30 см сохраняется соответственно $1,6 \pm 0,8$; $2,1 \pm 0,9$; $2,0 \pm 0,8$; $1,0 \pm 0,5\%$ ооцист. При контрольном культивировании перед началом опыта неспорулированных ооцист в 2%-ном растворе двуххромовокислого калия ($K_2Cr_2O_7$) спорулировало $73,2 \pm 2,7\%$ кокцидий. Из 406 неспорулированных ооцист, извлеченных из разных слоев почвы в апреле и 291 — в мае, спорулировало соответственно 11 и 6 спороцист, т. е. $2,7 \pm 0,8$ и $2,0 \pm 0,8\%$. Следовательно, большинство ооцист кокцидий после пяти-шестимесячного пребывания в почве в зимне-весеннее время теряет способность к споруляции.

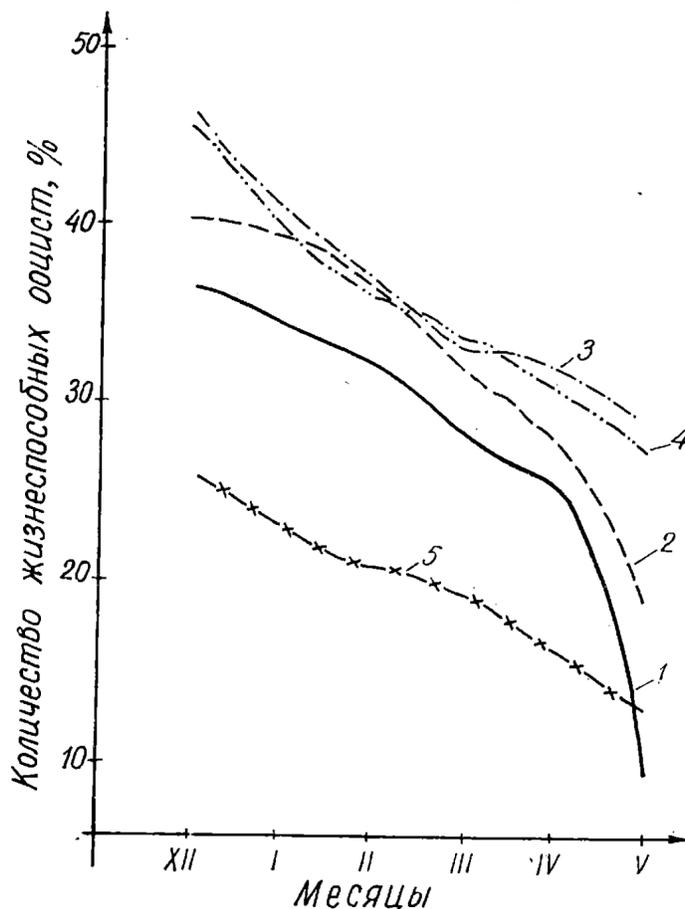
Иную картину наблюдали, изучая выживаемость спорулированных ооцист (рисунок). В декабре, январе и феврале на поверхности почвы соответственно сохранилось $36,4 \pm 3,7$; $34,6 \pm 3,5$ и $32,1 \pm 3,6\%$ жизнеспособных ооцист. Весной количество жизнеспособных кокцидий уменьшается. В марте и апреле жизнеспособными осталось соответственно $28,0 \pm 3,3$ и $25,0 \pm 3,2\%$ ооцист, в мае их количество резко уменьшилось — до $9,4 \pm 2,2\%$.

Исследуя пробы, взятые на глубине 5 см, установили, что в декабре, январе и феврале сохранилось соответственно $40,2 \pm 3,8$; $39,1 \pm 3,4$ и $36,1 \pm 3,6\%$ жизнеспособных кокцидий. В марте жизнеспособность сохраняли $31,6 \pm 3,7$, в апреле — $27,7 \pm 3,2$; в мае — $18,9 \pm 3,1\%$ кокцидий. На глубине 10 см в декабре сохранилось $45,4 \pm 4,0$, в январе — $40,0 \pm 3,9$ и феврале $36,8 \pm 3,7\%$ жизнеспособных ооцист. В этом же слое в марте, апреле и мае сохранилось соответственно $33,1 \pm 3,5$; $31,7 \pm 3,8$ и $28,9 \pm$

$\pm 3,6\%$ ооцист. На глубине 20 см в декабре выделено $46,1 \pm 4,0\%$ жизнеспособных кокцидий, а в январе и феврале погибло соответственно $39,7 \pm 3,7$ и $36,6 \pm 3,8\%$. На глубине 20 см в марте сохранилось $33,5 \pm 3,8$, в апреле — $30,9 \pm 3,7$, а в мае — $27,7 \pm 3,8\%$ спорулированных ооцист. На глубине 30 см в декабре сохранилось $26,2 \pm 3,7\%$ спорулированных ооцист кокцидий, а в январе и феврале — соответственно $23,1 \pm 3,6$ и $20,9 \pm 3,1\%$. На глубине 30 см в марте сохранилось $19,3 \pm 3,0$, в апреле — $16,2 \pm 3,6$, в мае $13,4 \pm 2,6\%$ спорулированных ооцист кокцидий. Заражая подопытных животных установили, что препатентный период продолжается 8—16 дней, а патентный 6—18 дней. Крольчата контрольной группы остались не инвазированными, следовательно, спонтанное заражение животных в период исследований было исключено. В фекалиях кроликов, зимовавших в виварии, ооцисты кокцидий обнаружены во всех пробах: 1—2 в пробах, взятых с поверхности и

Выживаемость спорулированных ооцист:

1 — на поверхности почвы; 2 — на глубине 5 см; 3 — на глубине 10 см; 4 — на глубине 20 см; 5 — на глубине 30 см.



глубины 30 см, 5—8 — с глубины 5 см и 8—12 с глубины 10 и 20 см. При исследовании инвазионности ооцист кокцидий, заложенных в почву и перезимовавших в фекалиях, достоверных различий в сохранности между видами ооцист кокцидий кишечника и возбудителем кокцидиоза печени нами не установлено.

Н. П. Орлов (1956), М. В. Крылов (1959, 1960) особо неблагоприятным условием для кокцидий домашних животных считают частую смену оттепелей и заморозков, характерную для юга Украины. Так, по данным Одесской гидрометеорологической обсерватории, в декабре средняя температура воздуха $1,7^{\circ}\text{C}$ (максимальная и минимальная соответственно $4,2^{\circ}$ и $-1,1^{\circ}\text{C}$), средняя температура поверхности почвы $2,0^{\circ}\text{C}$, относительная влажность воздуха 87% . В январе средняя температура воздуха $0,7^{\circ}\text{C}$ (максимальная и минимальная соответственно $3,5^{\circ}$ и $-1,7^{\circ}\text{C}$) средняя температура поверхности почвы $1,0^{\circ}\text{C}$ и относительная влажность воздуха 92% . Следовательно, колебание температуры воздуха и почвы в первые месяцы зимы губительно действуют на кокцидий.

Весной температура воздуха и почвы повышается, а влажность воздуха понижается. Так, в марте средняя температура воздуха $4,9^{\circ}\text{C}$ (максимальная $7,9^{\circ}\text{C}$, минимальная $2,7^{\circ}\text{C}$), средняя температура поверхности почвы 7°C и относительная влажность воздуха 78% . В апреле и мае средняя температура воздуха повышается до $11,9$ — $15,5^{\circ}\text{C}$ (максимальная $14,2$ — $19,0^{\circ}\text{C}$, минимальная $8,8$ — $12,2^{\circ}\text{C}$), средняя температура поверхности почвы — до 15 и 22°C , относительная влажность воздуха в апреле 83 , мае 71% .

Беккер и Круч (Becker, Crouch, 1931) установили, что ооцисты *Eimeria magna* и *E. perforans* при температуре ниже 10°C не спорулируют. Е. М. Хейсин (1967) считает, что большинство видов кокцидий может спорулироваться при температуре воздуха $10\text{--}30^{\circ}\text{C}$. Поэтому можно полагать, что в условиях юга Украины температурные условия в зимне-весенний период неблагоприятны для споруляции и потому основная масса неспорулированных ооцист гибнет.

Сравнивая данные о выживаемости спорулированных ооцист, необходимо отметить, что на поверхности почвы и на глубине 5 см весной жизнеспособных ооцист меньше, чем зимой (соответственно $P < 0,01$; $P < 0,02$). По-видимому, весной ооцисты гибнут в результате повышения температуры воздуха и почвы, действия прямых солнечных лучей и понижения влажности, т. к. на глубине 10—20—30 см, где влияние этих факторов сказывается меньше, весной и зимой сохраняется одинаковое количество жизнеспособных ооцист ($P > 0,05$; $P > 0,05$; $P > 0,02$). Вместе с тем зимой выживаемость кокцидий на глубине 30 см выше, чем на поверхности почвы ($P < 0,05$), на глубине 10 и 20 см выше, чем на глубине 30 см (соответственно $P < 0,01$; $P < 0,01$), а на глубине 5 см выше, чем на глубине 30 см ($P < 0,01$). Весной выживаемость ооцист на глубине 10 см выше ($P < 0,01$), чем на глубине 30 см, а на глубине 20 см выше, чем на глубине 30 см ($P < 0,02$). Между данными о выживаемости кокцидий весной на глубине 5 и 30 см достоверных различий нет ($P > 0,1$).

Следовательно, в условиях юга Украины кокцидии, прикрытые слоем почвы, находятся в сравнительно благоприятных условиях. Они защищены от воздействия низких и высоких температур, а также пониженной влажности воздуха. Именно поэтому к концу весны сохраняется жизнеспособных спорулированных ооцист больше на глубине 20 см, чем на глубине 5 см. Но на глубине 30 см количество сохранившихся кокцидий заметно уменьшается. По данным Е. М. Хейсина (1935), 90% неспорулированных кокцидий кроликов, пробыв три недели в анаэробных условиях, погибает. Кроме того, без аэрации ооцисты спорулируют вяло и медленно.

Кислород необходим спорулированным и неспорулированным ооцистам для дыхания. Причем, неспорулированные ооцисты, по сведениям Вильсона и Фейбайрна (Wilson a. Fairbairn, 1961), поглощают его интенсивнее, чем спорулированные. Правда, Гудрич (Goodrich, 1944) и Дункан (Duncan, 1959) указывают, что немногие ооцисты могут развиваться и при недостатке кислорода. Исходя из этого, можно предположить, что на глубине 30 см незрелые и спорулированные ооцисты гибнут из-за недостаточной аэрации почвы. Такое же мнение высказали Л. Б. Левинсон и Б. Т. Федоров (1936), считая, что созревание ооцист кокцидий кролика, а следовательно, и их выживаемость зависит от степени аэрации почвы.

Выводы

1. Неспорулированные ооцисты кокцидий кроликов в условиях юга Украины в зимне-весенний период погибают как на поверхности почвы, так и в глубже лежащих слоях. Только единичные из них остаются жизнеспособными.

2. Большинство спорулированных ооцист в течение зимне-весеннего периода погибает. Но от $9,4 \pm 2,2$ до $28,9 \pm 3,6\%$ ооцист сохраняют жизнеспособность не только на поверхности почвы, но и на различных глубинах. Такие ооцисты могут вызывать инвазию с продолжительностью препатентного и патентного периодов, характерной для кроличьего кокцидиоза.

3. В зимне-весенний период на глубине 5—10—20 см спорулированных ооцист сохраняется больше (в наших исследованиях соответственно $18,9 \pm 3,6$; $28,9 \pm 3,6$ и $27,7 \pm 3,8\%$), чем в других слоях почвы.

4. Указанные обстоятельства создают большие возможности для заражения в условиях юга Украины кроликов в весенний период перезимовавшими ооцистами и должны быть учтены при организации профилактики и мер борьбы с кокцидиозной инвазией.

ЛИТЕРАТУРА

- Каминский Л. С. 1964. Статистическая обработка лабораторных и клинических данных. Л.
- Крылов М. В. 1959. Продолжительность спорогонии ооцист кокцидий овец на сезонных пастбищах Таджикистана. ДАН ТаджССР, в. 2.
- Его же. 1960. Выживаемость ооцист кокцидий овец на сезонных пастбищах Таджикистана. Изд. отд. с.-х. и биол. наук АН ТаджССР, в. 2.
- Левинсон Л. Б., Федоров Б. Т. 1936. Жизнеспособность ооцист кокцидий в зависимости от условий внешней среды. Бюлл. МОИП, отд. биол., т. 45.
- Меликян Е. Д. 1954. Длительность сохраняемости кокцидий во внешней среде. Ветеринария, в. 5.
- Музыковский А. М. 1963. Счетные приспособления для копрологических исследований. Мед. паразитол. и паразит. болезни, в. 2.
- Орлов Н. П. 1956. Кокцидиозы сельскохозяйственных животных. М.
- Хейсин Е. М. 1935. Строение ооцисты и проницаемость ее оболочек у кокцидий из кролика. Тр. ин-та им. Пастера, т. 2.
- Его же. 1967. Жизненные циклы кокцидий домашних животных. Л.
- Becker E. a. Crouch H. 1931. Some effects of temperature upon the development of oocyst of coccidia. Proc. soc. Exper. Biol. a. Med., v. 28.
- Duncan S. 1959. The effect of some chemical and physical aqcuts on the oocysts of the pigeon coccidium, *Eimeria labbeana*. J. Parasitol., v. 45.
- Farr M. a. Wehr E. 1949. Survival of *Eimeria acervulina*, *Eimeria tenella* and *Eimeria maxima* oocysts on soil under various field conditions. Ann. N. V. Acad. Sci., v. 52.
- Goodrich H. 1944. Coccidian oocysts. J. Parasitol., v. 36.
- Horton-Smith C. 1947. Coccidiosis some factors influencing its epidemiology. Vet. Rec., v. 59.
- Patterson F. 1933. Studies on the viability of *Eimeria tenella* in soil. Cornell Vet., v. 23.
- Wilson P. a. Fuirbairn D. 1961. Biochemistry of sporulation in oocysts of *Eimeria acervulina*. J. Protozool., v. 8.

Поступила 10.IV 1970 г.

ON SURVIVAL OF OOCYSTS OF RABBIT COCCIDIA UNDER CONDITIONS OF SOUTH UKRAINE

A. T. Timchenko

(Medical Institute, Odessa)

Summary

Survival of unsporulated and sporulated *Coccidia* oocysts in rabbits was studied in winter-spring period on the soil surface and at the depth of 5—10—20—30 cm under conditions of south Ukraine. It was established that unsporulated oocysts die on the surface and in the depth and only singular individuals (not more than $2.1 \pm 0.9\%$) preserve their viability. Sporulated oocysts preserve the viability especially at the depth of 5—10—20 cm and can evoke coccidiosis invasion.