

ВЛИЯНИЕ ДИАПАУЗЫ КЛЕЩА
IXODES RICINUS (IXODIDAE)
НА РАЗМНОЖЕНИЕ В ЕГО ОРГАНИЗМЕ
ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Н. П. Мишаева, Н. И. Ерофеева

Белорусский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии, Минск

Изучено размножение вируса клещевого энцефалита (КЭ) в личинках и нимфах клещей *Ixodes ricinus* L., развивающихся в различных температурных и фотопериодических условиях. Вирус КЭ размножается более интенсивно в организме клещей, развивающихся без диапаузы. У диапаузирующих особей не отмечено изменения титров вируса до начала личинных превращений клещей.

Диапауза является ответной реакцией клещей на неблагоприятные условия внешней среды. Для личинок и нимф *I. ricinus* известны две формы диапаузы: морфогенетическая (задержка метаморфоза насосавшихся особей) и поведенческая (сохранение пассивного состояния голодных особей). (Бабенко, Платонова, 1965; Белозеров, 1966, 1972). Изучение влияния диапаузы клещей на интенсивность размножения в них вируса клещевого энцефалита (КЭ) до сих пор никем не проводилось. Целью настоящего исследования было: а) изучить размножение вируса КЭ в напитавшихся клещах *I. ricinus* под влиянием температурных и фотопериодических условий; б) изучить размножение вируса КЭ в клещах, развивающихся с диапаузой или без нее.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использованы голодные личинки и нимфы *I. ricinus*, полученные из потомства самок, отловленных в природе и проверенных на отсутствие спонтанной зараженности их вирусом КЭ. Клещи до и после эксперимента содержались в разных температурных и фотопериодических условиях, определяющих развитие переносчиков с диапаузой или без диапаузы. Клещи инфицировались в процессе кровососания на белых мышах весом 10—12 г, зараженных вирусом КЭ (штамм 110) подкожно в объеме 0.3 мл в течение 3 дней: за день до посадки клещей, в 1-й и 3-й дни после посадки. Мышей заражали вирусом с исходным титром $8.5 \pm 0.3 \lg \text{ЛД}_{50}/0.03 \text{ мл}$ в разведении 10^{-2} . Клещей исследовали на наличие вируса сразу же после насыщения, а затем через определенные интервалы времени, причем диапаузирующие особи и развивающиеся без диапаузы исследовались в параллельных опытах. В биопробу брали 40 напитавшихся личинок, 40 голодных или 20 напитавшихся нимф. Определение инфекционного титра вируса проводили на белых мышах весом 5—6 г. Титры вируса рассчитывали по Керберу в модификации Ашмарина.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В табл. 1 представлены результаты вирусологического исследования личинок *I. ricinus*, содержащихся после инфицирующего кормления на зараженных животных в различных фотопериодических и температур-

Т а б л и ц а 1

Интенсивность размножения вируса КЭ в напитавшихся личинках *I. ricinus* в различных температурных и фотопериодических условиях

Титры вируса в $1g$ ЛД ₅₀ в напитавшихся личинках	Условия содержания личинок после насыщения	Титры вируса в $1g$ ЛД ₅₀ /0.03 мл в напитавшихся личинках через			
		1—2 недели	4 недели	8 недель	14 недель
1.0	23°, темнота	2.0	4.3 (начало линьки)	5.5 (перелиняли в нимф)	2.8
	23°, 6 ч света	2.7	—	—	—
	23°, 18 »	2.6	—	—	—
	23°, 24 »	2.6	5.2 (начало линьки)	6.0 (перелиняли в нимф)	1.5
1.0	18°, темнота	2.2	4.5	5.5 (перелиняли в нимф)	1.4
	18°, 6 ч света	2.7	4.4	—	—
	18°, 18 »	1.8	—	—	—
	18°, 24 »	1.7	4.0	—	—
1.8	9°, темнота	1.5	3.0	3.3 (диапауза)	— (диапауза)
	9°, 6 ч света	2.8	2.6	—	—
	9°, 18 »	2.6	3.0	—	—
	9°, 24 »	2.4	3.7	—	—

Примечание. Личинки до питания содержались при температуре 4°, в темноте.

ных условиях. До эксперимента все клещи содержались при 4° С в темноте, что определило одинаковый характер развития сытых особей (в данном случае — с диапаузой). Исследование личинок через 1—2 недели после насыщения показало, что титры вируса в них были практически одинаковыми ($P > 0.01$). Однако в дальнейшем при исследовании личинок через 4 и 8 недель после насыщения были отмечены различия в титрах вируса КЭ в партиях клещей, содержащихся в различных режимах. Как видно из представленных в табл. 1 данных, длина светового дня не оказывала существенного влияния на размножение вируса в напитавшихся переносчиках. Титры вируса были одинаковыми как в личинках, содержащихся в темноте, так и в клещах, находившихся в условиях различного освещения. На интенсивность размножения возбудителя, однако, оказывала влияние температура, при которой содержались напитавшиеся клещи. Известно, что температуры 23° и 18° снимают диапаузу у напитавшихся личинок: в наших экспериментах напитавшиеся личинки спустя 4 (23°)—6 (18°) недель после насыщения приступили к линьке, в то время как при 9° клещи находились еще в состоянии прочной диапаузы.

Вирусологическое исследование личинок показало, что титры вируса в них через 4 недели после кормления были выше (4.0—5.2lg ЛД₅₀) при содержании клещей в условиях 18—23° и ниже — при 9° (2.6—3.7lg ЛД₅₀). Различия статистически достоверны ($P < 0.05$). Исследование нимф сразу же после линьки их из личинок показало, что ни в одном случае не было отмечено статистически достоверных различий в титрах вируса в личинках перед линькой и в перелинявших нимфах. В дальнейшем, однако, в голодных нимфах, содержащихся при 23 и 18°, титры вируса значительно снизились. Так, у клещей, содержащихся при 23°, титр вируса в перелинявших нимфах составил 5.5 и 6.0 lg ЛД₅₀, а спустя 14 недель — лишь 2.8 и 1.5 lg ЛД₅₀ соответственно. У нимф, находящихся при 18°, титр вируса за аналогичный период времени снизился с 5.5 до 1.4 lg ЛД₅₀.

На основании данных табл. 1, показывающих, что нарастание титров вируса более интенсивно при повышенной температуре содержания переносчиков, снимающей у них состояние диапаузы, было высказано предположение, что вирус КЭ размножается более интенсивно в клещах, развиваю-

щихся без диапаузы. Для подтверждения этого предположения был поставлен эксперимент с личинками и нимфами *I. ricinus*, которым до и после кормления были созданы температурные и фотопериодические условия, формирующие у напитавшихся клещей или прочную диапаузу, или развитие без нее. В табл. 2 представлены результаты исследования зараженных личинок *I. ricinus* с разным характером развития. Титры вируса в личинках сразу после насыщения были практически одинаковыми ($P > 0.05$). Однако начиная с 4-й недели было отмечено более интенсивное нарастание титров возбудителя у бездиапаузных клещей ($4.3 \lg \text{ЛД}_{50}$) по сравнению с диапаузирующими особями ($3.0 \lg$, различия статистически достоверны, $P < 0.05$). При исследовании клещей обеих партий через 8 недель после насыщения также отмечены более высокие титры вируса в членистоногих, развивающихся без диапаузы.

Т а б л и ц а 2
Интенсивность размножения вируса КЭ в напитавшихся личинках *I. ricinus*, развивающихся с диапаузой или без нее

Характер развития сытых личинок	Условие содержания личинок до и после кормления	Титры вируса в $\lg \text{ЛД}_{50}/0.03$		
		сразу после насыщения	через 4 недели	через 8 недель
Без диапаузы	18°, 18 ч света	1.0±0.2	4.3±0.3	5.3±0.4 (перелиняли в нимф)
С диапаузой	18°, 6 ч света	1.8±0.5	3.0±0.2 (диапауза)	3.5±0.3 (диапауза)

У личинок, впадающих в диапаузу, титр вируса после насыщения несколько увеличился (с 1.8 до $3.0 \lg \text{ЛД}_{50}$, $P=0.05$) к 4-й неделе, однако в дальнейшем сохранялся на том же уровне до 8 недель — срока, когда бездиапаузные личинки уже перелиняли в нимф. Исследование последних показало, что после линьки титр вируса в голодных нимфах практически не отличался от такого в напитавшихся личинках до начала личинных превращений ($P > 0.05$).

Аналогичные результаты получены нами при исследовании напитавшихся нимф, у которых, так же как и у личинок, до кормления был детерминирован определенный характер развития сытых особей. Как видно из представленных в табл. 3 данных, титры вируса в напитавшихся нимфах через 3, 5 и 10 недель после насыщения на инфицированном животном были равны соответственно 6.5; 5.5 и $5.6 \lg \text{ЛД}_{50}$ в клещах, развиваю-

Т а б л и ц а 3
Интенсивность размножения вируса КЭ в напитавшихся нимфах *I. ricinus*, развивающихся с диапаузой или без нее

Характер развития сытых нимф	Условие содержания		Титры вируса в $\lg \text{ЛД}_{50}$		
	до кормления	после кормления	через 3 недели	через 5 недель	через 10 недель
Без диапаузы	Темнота, 23°	23°, 18 ч света	6.5±0.4	5.5±0.2 (начало линьки)	5.6±0.3 (перелиняли в имаго)
С диапаузой	18 ч света, 18°	23°, 6 ч света	2.6±0.3	3.0±0.4 (диапауза)	2.8±0.2 (диапауза)

щихся без диапаузы, и 2.6; 3.0 и $2.8 \lg \text{ЛД}_{50}$ в диапаузирующих особях, т. е. выше на 2.5—3.9 \lg (различия статистически достоверны, $P < 0.01$). Как и в предыдущем эксперименте, содержание вируса в напитавшихся

нимфах перед началом линьки и вылинявших из них имаго были практически одинаковыми.

Таким образом, из представленных данных видно, что в личинках и нимфах *I. ricinus* после насыщения наблюдается размножение вируса КЭ, однако интенсивность репродукции возбудителя зависит от характера развития клещей. Титры вируса в клещах, впадающих в диапаузу, были ниже по сравнению с бездиапаузными особями у личинок на 1.3—1.8 lg, у нимф — на 2.5—3.9 lg ЛД₅₀. Различия между приведенными показателями статистически достоверны, ($P < 0.01$ или 0.05). Следует отметить довольно высокую стабильность в титрах возбудителя у клещей, впадающих в диапаузу, что, по-видимому, имеет определенное значение для сохранения возбудителя КЭ в природных условиях. Установлено также, что титры вируса в свежеперелинявших нимфах и имаго практически не отличаются от таковых в клещах предыдущей стадии развития перед началом линьки ($P > 0.01$). В дальнейшем, однако, при хранении клещей при комнатной температуре, наблюдается значительное падение титров вируса до неопределяемого уровня, что было показано нами также в предыдущих исследованиях (Мишаева, 1976), при этом вирус в голодных имаго клещей сохраняется значительно лучше, чем в голодных личинках или нимфах.

Следует отметить, что предпринятая нами попытка изучения характера размножения вируса КЭ в личинках и нимфах *I. ricinus* в период личинных превращений не позволила установить четкой закономерности. В многократно повторенных опытах по определению вируса в клещах, находящихся в стадии линьки, вирус КЭ то обнаруживали в довольно высоких титрах (до 5.0 lg ЛД₅₀/0.03 мл), то получали отрицательные результаты. По-видимому, влияние на возбудителя КЭ биохимических процессов, происходящих в организме клещей во время линьки, когда многие ткани членистоногих подвергаются гистолиту (Балашов, 1967), должно быть предметом специального исследования.

ВЫВОДЫ

1. Интенсивность размножения вируса КЭ в напитавшихся личинках и нимфах *I. ricinus* зависит от характера их развития, определяемого условиями внешней среды: световым и температурным режимами содержания переносчиков. У клещей, развивающихся без диапаузы, титры вируса выше, чем у диапаузирующих особей. Отмечена высокая стабильность в сохранении титров вируса КЭ в клещах, впадающих в диапаузу.

2. Непосредственно условия освещения, без учета характера физиологического состояния клещей и характера их развития, не оказывают существенного влияния на интенсивность размножения в них вируса.

3. Титры вируса КЭ в перелинявших нимфах и имаго практически остаются такими же, как и в напитавшихся клещах предшествующей стадии развития перед линькой. В дальнейшем, однако, при содержании голодных клещей в условиях 18—23° С количество вируса в них снижается.

Л и т е р а т у р а

- Б а б е н к о Л. В., П л а т о н о в а В. Ф. 1965. О диапаузе личинок *I. ricinus* и *I. persulcatus*. Сообщ. 1. Экспериментальные данные о воздействии фотопериода на голодных и сытых личинок. — Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 34, (1): 69—73.
- Б а л а ш о в Ю. С. 1967. Кровососущие клещи — переносчики болезней человека и животных. Л., Изд-во «Наука»: 318.
- Б е л о з е р о в В. Н. 1966. Нимфальная диапауза у клещей *I. ricinus*. 1. Зависимость поведения голодных и развития сытых нимф от фотопериодических условий. — Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 35, (6): 723—729.
- Б е л о з е р о в В. Н. 1967. Нимфальная диапауза у клеща *I. ricinus*. 2. Разные формы диапаузы нимф и особенности их регуляции у клещей Ленинградской популяции. — Паразитология, 1 (3): 279—287.

- Белозеров В. Н. 1972. Проблемы фотопериодизма и диапаузы у насекомых. Изд-во ЛГУ : 175—192.
- Мишаева Н. П. 1976. Изучение факторов, влияющих на репродукцию и длительность сохранения вируса клещевого энцефалита в клещах *I. ricinus*. — В кн.: Актуальные вопросы экологии вирусов. Минск : 72—76.

THE EFFECT OF DIAPAUSE OF THE TICK *IXODES RICINUS*
(IXODIDAE) UPON THE MULTIPLICATION OF THE TICK
ENCEPHALITIS VIRUS IN THEM

N. P. Mishaeva, N. I. Erofeeva

S U M M A R Y

The tick encephalitis virus was found to multiply more intensively in ticks developing without diapause. Thus, in larvae developing with diapause, in 4 and 8 weeks after they feed on infected animals, the virus titers were 3.0 and 3.5 lg LD₅₀ respectively. At the development without diapause the titers were 4.3 and 5.3, respectively ($P < 0.05$). The virus titers in infected nymphs developing without diapause were 2.5 to 3.9 lg LD₅₀ higher than those of the diapausing individuals. In diapausing larvae and nymphs the tick encephalitis virus remained for a long time (8 to 10 weeks) without fall of titers. The fall of virus titers was not recorded either during the moulting of larvae for nymphs and nymphs for imago but in hungry ticks, which were maintained for a long time at 18 to 23 C, the amount of virus gradually diminished.
