

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СЛЮНООТДЕЛЕНИЯ
ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ

З. Н. Кондрашова, Г. М. Котельникова и С. В. Колотвинов

Отдел арбовирусов Свердловского научно-исследовательского института
вирусных инфекций

Изучено слюноотделение клещей рода *Dermacentor* и *Ixodes*. Для получения слюны использовали методику, заключающуюся во введении под контролем микроскопа хоботка клеща, фиксированного вакуумдержателем, в пустой капилляр. От отдельных особей рода *Dermacentor* получали до 20 мкл слюны. Показана возможность неоднократного получения слюны от быстроприкрепляющихся особей рода *Dermacentor*, а также возможность получения слюны через сутки после снятия клеща. Возможно получение секрета слюнных желез самцов клещей рода *Dermacentor* до 0.1—0.15 мкл.

Заключение о передаче того или иного возбудителя через укус кровососущего членистоногого обычно основывается на фактах заболевания или гибели животного-хозяина, выделения из крови животного инфекционного агента или обнаружения в ней соответствующих антител. При этом в ряде случаев трудно сказать, получило ли животное инфекционный агент со слюной или же с экскрементами клещей, зачастую содержащими большое количество возбудителя. Наиболее точные данные могут быть получены при непосредственном исследовании секрета слюнных желез кровососущего членистоногого. Способ получения слюны иксодовых клещей был предложен Грегсоном (Gregson, 1957). Пользуясь его методом, экспериментаторы получали секрет слюнных желез в количестве, зависящем от вида клеща, степени его насыщения и вариантов методики, и в большинстве случаев не превышающем 3—9 мкл (Балашов, 1965). Увеличение секреции достигалось путем парентерального введения клещу стимулятора — пилокарпина в концентрации 0.2—0.3% (Howell, 1966) или 5—10% (Tatchell, 1967). Применение пилокарпина, хотя и дающее 6-кратное увеличение количества слюны, значительно усложняет процедуру сбора слюны, создавая опасность травмирования клеща и получения слюны с примесью пилокарпина, что, вероятно, может существенно осложнить последующее исследование этого секрета. Кроме того, введение пилокарпина вызывает гибель клещей, что исключает дальнейшее прижизненное наблюдение за ними.

В настоящем сообщении приведены результаты наблюдений за слюноотделением некоторых видов иксодовых клещей, полученные с помощью технических приемов, отличающихся от тех, что предложены Грегсоном.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Слюну получали на приборе для искусственного дозированного кормления насекомых, предложенном Алексеевым (1965). Благодаря имеющемуся в приборе вакуумдержателю удается быстро и надежно фиксировать клеща и под контролем бинокулярного стереоскопического микро-

скопа легко вводить хоботок в просвет капилляра, плотно соединенного с микропипеткой (0.1 мл). Для длительных наблюдений за чередующимися процессами поглощения кормовой жидкости и выделения секрета слюнных желез пипетку заполняют гемолизированной мышиной кровью. Выделяемая клещом слюна сдвигает столбик жидкости в пипетке, движение регистрируется с помощью проекционного устройства прибора на шкале экрана и таким образом учитывается количество выделенной клещом слюны. Слюну можно отсосать из пипетки, регулируя отсасываемое количество с помощью того же проекционного устройства. К порциям слюны, полученным таким способом, обычно прилепляется жидкость, заполняющая пипетку, что создает определенные неудобства. Однако этот способ позволяет регистрировать чередование периодов всасывания и слюноотделения с количественной характеристикой обоих процессов.

Большее количество слюны с помощью прибора удается получить, вводя ротовые части клеща, предварительно накормленного на животном, в пустой капилляр. Интенсивное слюноотделение наблюдается в течение первых минут после соприкосновения ротовых частей клеща со стенками капилляра и продолжается около 40—50 мин. Клещи, питавшиеся предварительно на животном в течение 2—3 суток, могут всасывать выделенную слюну, однако удобная подвижная система фиксирования клеща на приборе позволяет выводить хоботок, если клещ начинает всасывать выделенный секрет, сменить капилляр и вновь продолжить сбор слюны. Повторяющееся введение и выведение хоботка стимулирует выделение большого количества секрета.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Слюноотделение самок. Количество выделенной слюны измерено нами у 62 самок *D. marginatus*, 26 — *D. pictus* и 20 — *I. persulcatus*. Интенсивность слюноотделения клещами различного веса и срока предшествующего питания показана на рис. 1 и 2. Наибольшее количество слюны удавалось получить от клещей после предварительного 4—

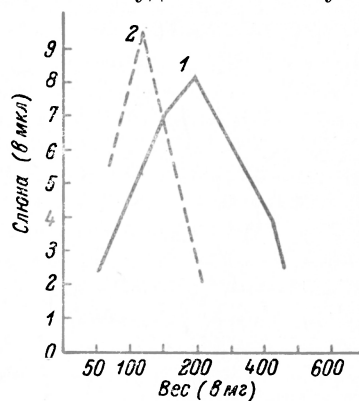


Рис. 1. Среднее количество слюны в зависимости от веса клещей.

1 — *D. marginatus*; 2 — *D. pictus*.

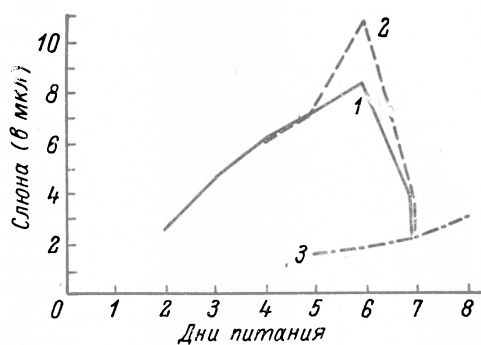


Рис. 2. Среднее количество слюны в зависимости от срока питания клещей.

1 — *D. marginatus*; 2 — *D. pictus*; 3 — *I. persulcatus*.

6-дневного (*I. persulcatus* — 7—8-дневного) питания на хозяине, что несколько отличается от данных Балашова (1965). В наших опытах клещи питались дольше, вероятно, в связи с тем что опыты проводились зимой, вне сезона активности клещей, и к тому же предшествующее сбору слюны кормление клещей проводилось на мышах, на которых взрослые клещи питаются дольше, чем на других лабораторных животных.

Количество секрета, выделяемое отдельными особями, варьирует в чрезвычайно широких пределах, особенно в периоды интенсивного слюноотделения (табл. 1, 2). Вариабельность не зависит ни от размеров клеща

Т а б л и ц а 1

Количество слюны, выделяемое самками клеща
D. marginatus за 2,5 часа питания гемолизированной кровью

Срок питания клеща на хозяине (в сутках)	Количество измерений	Общее количество слюны (в мкл)		
		мин.	макс.	средн.
2	4	0.75	2.0	1.31
4	4	0.3	11.2	5.1
5	4	2.0	16.73	5.74
6	5	2.0	9.0	4.5

Т а б л и ц а 2

Количество слюны, выделяемое самками клещей *Dermacentor marginatus*, *D. pictus* и *I. persulcatus*, различного периода предшествующего питания

Срок питания на животных (в сутках)	Количество особей	Вес клещей (в мг)			Количество полученной слюны		
		мин.	макс.	средн.	мин.	макс.	средн.

D. marginatus

2	6	40	60	50	0.75	6	2.37
3	4	90	120	108	3	5.2	4.5
4	9	90	120	110	3	11.2	5.8
5	15	100	270	183	2.0	9.0	7.0
6	11	160	230	201	2	20	8.22
7	17 (слюна получена у 6)	130	570	432	0.5	5.0	2.5

D. pictus

4	5	50	90	56	2	9	5.8
5	7	40	110	88	2.0	9.25	7.0
6	6	80	180	146	9	10.5	10.5
7	8	170	280	220	1.5	3.0	2.1

I. persulcatus

4	3	Слюноотделения нет					
5	4	15.8	54	50.2	0	6	1.5
7	3	36	74	60.8	1.5	4.0	2.0
8	10	38	89.5	63	2.0	4.0	2.7

в момент сбора слюны, ни от интенсивности питания и обусловлена, по-видимому, индивидуальными особенностями клещей (рис. 3). При одинаковом весе и периоде предшествующего питания на животном, при сходной интенсивности питания и частоте чередования периодов всасывания и слюноотделения клещи выделяли совершенно различное количество секрета за единицу времени.

В табл. 3 приведены данные о слюноотделении 9 самок, хранившихся в течение 24 часов после снятия с животного при 23° и влажности 80%, причем от двух самок (2 и 5) слюна получена дважды: сразу после снятия — в пустой капилляр и через сутки — в капилляр, заполненный кормовой жидкостью. Двукратное получение слюны становится возможным благодаря надежной и в то же время падающей иммобилизации клеща вакуум-держателем.

Количество полученной слюны не было меньше, если хоботок клеща перед сбором слюны последовательно отмывать антибиотиками и физио-

логическим раствором. Такой обработке, в частности, были подвергнуты тотчас после снятия с животного те 9 самок, данные о слюноотделении которых приведены в табл. 3. Контрольные опыты с предварительной обработкой хоботка необходимы при решении вопроса о механизме передачи возбудителя: механический ли это перенос с ротовых частей кровососа,

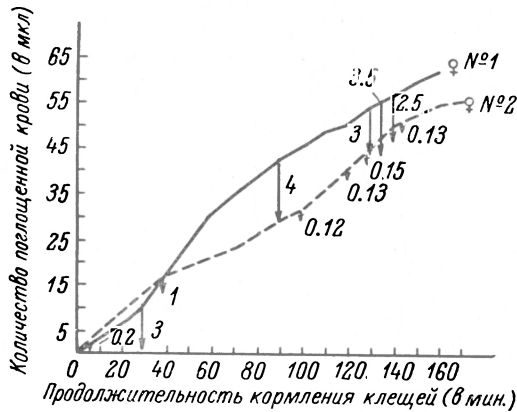


Рис. 3. Различия в слюноотделении самок клеща *D. marginatus* при сходной интенсивности питания.

Стрелками обозначено слюноотделение (в мкл).

в двух случаях (из 31) мы отмечали появление на кончике хоботка небольшого количества белесоватой студенистой массы, вслед за тем вновь шла обычная секреция.

Т а б л и ц а 3

Характеристика клещей *D. marginatus*, у которых удалось получить слюну через сутки после снятия с хозяина

Срок питания на животном (в сутках)	Вес клеща (в мг)	Количество полученной слюны (в мкл)	Способ получения слюны
4	60	0.3	В капилляр с кормовой жидкостью
4	Не определен	Сразу 7.2 +4.0 через сутки	В пустой капилляр и капилляр с кормовой жидкостью
4	90	5.0	В капилляр с кормовой жидкостью
4	100	3.0	В пустой капилляр
5	130	Сразу 5.0 +4.0 через сутки	В пустой и капилляр с кормовой жидкостью
5	120	8.0	В пустой капилляр
5	120	8.0	»
5	190	10.0	»
6	130	1.0	»

Наблюдения за способностью к дальнейшему питанию клещей, у которых была собрана слюна, показали, что большинство клещей рода *Dermacentor* и наиболее активные особи *I. persulcatus*, снятые с теплокровного хозяина до пятых суток питания, были способны вновь прикрепляться и питаться на животном до насыщения. Возможно также неоднократное получение порций слюны от клещей рода *Dermacentor*, ибо они довольно быстро присасываются и легко открепляются. Так, от самок *D. pictus* мы могли получить порции слюны трижды: на 3, 4-е и 5-е сутки питания, причем после сбора слюны на 3-и и 4-е сутки самки присасывались вновь

в течение первого часа. Количество слюны, получаемое за каждую процедуру, было не меньше 1.0 мкл.

Слюноотделение самцов. Многократно обсуждавшийся в литературе вопрос о возможной роли самцов иксодовых клещей в передаче инфекции нуждается в доказательстве наличия у них способности к инъекированию слюны в тело хозяина. На рис. 4 изображено чередование периодов всасывания и слюноотделения у самцов *D. pictus*, снятых после 5-дневного активного питания на золотистом хомячке. Продолжая

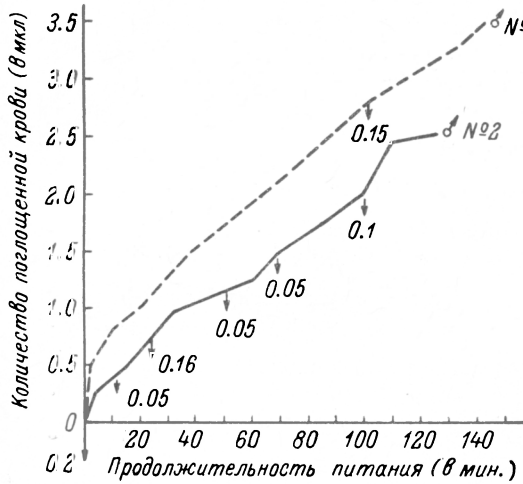


Рис. 4. Питание и слюноотделение на приборе самцов *D. pictus* (5 суток питания на животном).

Стрелками обозначено слюноотделение (в мкл).

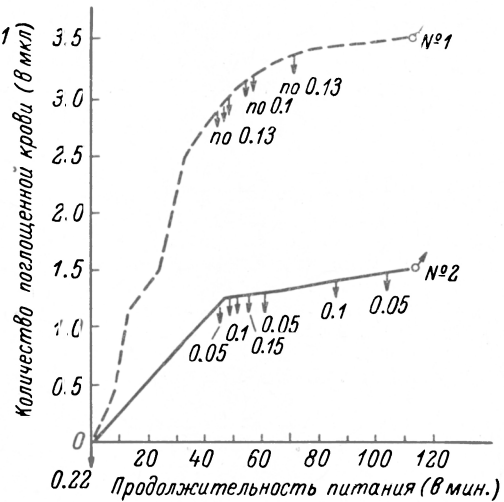


Рис. 5. Слюноотделение самцов *D. pictus* при прерывистом питании с интервалом в 7 дней.

Обозначения те же, что и на рис. 4.

питание на приборе, самцы за 2.5 часа выделяли 0.3—0.4 мкл слюны. Те же особи, вновь подсаженные на прибор после 7-дневного хранения при температуре $+23^{\circ}$ и влажности 80%, выделяли, возобновив питание, еще не менее 0.6—0.7 мкл секрета за 2 часа (рис. 5). В отличие от самок количество секрета, выделяемого отдельными особями, было более постоянным. Слюноотделение удавалось регулярно получить и при введении в пустой капилляр ротовых частей активно питающихся самцов рода *Dermacentor*, снятых с животных, начиная с 3-го дня кормления на них. Количество выделенного секрета было иногда настолько мало, что не поддавалось измерению, но в большинстве случаев достигало 0.1—0.15 мкл. Во всех случаях это был второй тип секреции. Хотя количество слюны, выделяемой самцами рода *Dermacentor*, во много раз ниже, чем то, которое наблюдается у самок, способность самцов к длительному (до нескольких месяцев) прикреплению к коже хозяина наряду с длительным сохранением в них возбудителя делает возможным их участие в переносе инфекции.

ВЫВОДЫ

1. Применение для получения секрета слюнных желез иксодовых клещей прибора для искусственного дозированного кормления переносчиков значительно упрощает процедуру сбора слюны и позволяет без парентерального введения клещам стимулятора регулярно получать слюну иксодовых клещей в достаточно большом количестве.

2. Количество слюны подвержено значительным колебаниям и зависит от вида клеща, срока предшествующего питания его на животном, веса клеща и индивидуальных особенностей отдельных экземпляров. Возможно получение секрета слюнных желез через сутки после снятия клеща с теплокровного хозяина.

3. После отмывания хоботка клещей антибиотиками и физиологическим раствором количество выделяемой ими слюны не снижалось.

4. Клещи, снятые с животного до 5-го дня питания, после сбора слюны могли вновь прикрепляться к коже животного и докармливаться до насыщения. У быстро прикрепляющихся особей рода *Dermacentor* возможно 2—3-кратное получение слюны (на 3, 4, 5-е сутки питания) в количестве не менее 1 мкл.

5. Отмечено чередование периодов всасывания кормовой жидкости и слюноотделения у самцов рода *Dermacentor* при прерывистом питании без интервала и с недельным интервалом.

6. От самцов рода *Dermacentor* удается получить в пустой капилляр до 0.1—0.15 мкл слюны, начиная с 3-го дня питания на животном.

Л и т е р а т у р а

- А л е к с е е в А. Н. 1965. Принудительное дозированное кормление насекомых. Мед. паразитол., 4 : 467—481.
- Б а л а ш о в Ю. С. 1965. Механизм слюноотделения и морфолого-гистохимические особенности слюнных желез иксодовых клещей (Acarina, Ixodoidea). Энтомол. обозр., 44 (4) : 785—802.
- G r e g s o n J. D. 1957. Experiments on oral secretion of the Rocky Mountain wood tick, *Dermacentor andersoni* Stiles (Acarina, Ixodoidea). Canad. Entomol., 89 : 1—5.
- Н о w e l l C. J. 1966. Collection of salivary gland secretion from the argasid *Ornithodoros savignyi* Audouin (1827) by the use of a pharmacological stimulant. J. S. Afr. Vet. Med. As., 37 : 236—239.
- T a t c h e l l R. J. 1967. A modified method for obtaining tick oral secretion. J. of Parasitology, 53 (5) : 1106—1107.

EXPERIMENTAL STUDIES OF SALIVATION IN IXODID TICKS

Z. N. Kondrasheva, G. M. Kotelnikova and S. V. Kolotvinov

S U M M A R Y

Salivation of the ticks of the genera *Dermacentor* and *Ixodes* was studied. In order to obtain the saliva the method was used of the insertion (under the control of microscope) of the tick's proboscis fixed with vacuumholder into an empty capillary. Up to 20 mkl of saliva were obtained from some individuals of the genus *Dermacentor*. The possibility was established of repeated obtaining the saliva from quickly attaching specimens of *Dermacentor* as well as possibility to obtain the saliva in 24 hours after the removal of the tick. Up to 0.1—0.15 mkl of salivary glands secretion can be obtained from males of *Dermacentor*.