

Из кафедры паразитологии, зав. — доц. Щербович И. А.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ АМИДОСТОМА ТОЗА ГУСЕЙ

Ассистент И. В. Лазовский

Одним из распространенных глистных заболеваний гусей является амидостоматоз. Возбудитель данного заболевания *Amidostomum anseris* обнаружен в подслизистой оболочке мышечного желудка гусей еще в 1800 году Цедером и назван им *Strongylus anseris*. Позднее Райе и Анри (Railliet et Henry) отнесли этого паразита к роду *Amidostomum*.

В 1931 году Крэм (Cram) впервые изучала биологию *A. anseris*. При вскрытии одного гуся из мышечного желудка Крэм извлекла несколько паразитов. Из самок были получены яйца *A. anseris* и высеяны на питательную среду. Через 17 часов в яйцах уже были личинки, активнодвигающиеся. За вылуплением личинок из яиц и их поведением Крэм наблюдала в течение 25 дней. Двадцатипятидневную культуру с личинками Крэм скормила двум опытным уткам при одной контрольной. Из двух опытных уток заразилась лишь одна, из которой при вскрытии автор извлекла 9 взрослых паразитов. Крэм объясняет слабое заражение одной утки и стерильность другой опытной тем, что личинки *A. anseris* в момент скармливания их уткам не достигли инвазионной стадии.

В Советском Союзе биологию *A. anseris* изучала Скарбилович. Последняя для культивирования личинок яйца получала различными способами: 1) помещала самок для откладки яиц в физ. раствор и воду, 2) разрушала яйцеметы самок, 3) вылавливала яйца из фекалий по методу Фюллеборна. Лучшим способом получения яиц, по мнению Скарбилович, является собирание яиц по Фюллеборну. Скарбилович довольно подробно описала структуру и морфологию яиц *A. anseris*, развитие яиц и личинок в лабораторных условиях при разной температуре и при высушивании, а также ею описаны сроки вылупливания личинок из яиц на питательных средах при t° от 15 до 27° С.

Одновременно с этим Скарбилович отмечает миграцию личинок по стенкам сосуда.

Скарбилович приходит к следующим выводам: 1) развитие и линька личинок *A. anseris* происходит внутри яйца, 2) личинки из яиц вылупляются в инвазионной стадии, при чем при $t^{\circ} 23^{\circ}\text{C}$ вылупление происходит на 5—6 день.

Как видно из литературных данных, биология *A. anseris* далеко еще не изучена. Имеются противоречивые данные по вопросу продолжительности созревания личинок до инвазионной стадии, не изучена жизнеспособность личинок во внешней среде, а также поведение инвазионной личинки в организме гуся. Поэтому мы и приступили к разрешению вышеуказанных вопросов.

Собственные исследования

Методика работы. Для получения яиц *A. anseris* приобретались заведомо зараженные амидостоматозом гусята. Часть материала мы получали непосредственно из фекалий гусей методом Фюллеборна. Яйца, захватываемые металлической петлей, вместе с поверхностной пленкой, опускались в воду и промывались три-четыре раза центрифугированием. Отмытые таким путем яйца *A. anseris* использовывались для различных целей. Этим методом не представлялось возможным пользоваться в тех случаях, когда у гусят была двойная или тройная инвазия.

Незначительную часть материала мы получали непосредственно из самок, разрушая их яйцеметы. Яйца, полученные этим методом, оказывались незрелыми и, следовательно, при посевах не развивались. Так что такой метод для наших опытов оказался мало пригодным. И, наконец, для некоторых опытов, где необходим был точный подсчет количества яиц, мы собирали половозрелых самок, помещали их в чашки Петри с физ. раствором или 2% водным агаром и оставляли в термостате при $t^{\circ} 37^{\circ}\text{C}$ на разные сроки (3—4—5—6—7—8—10—12—18—24 часа), в результате чего от одной самки получали в среднем 10 яиц. Яйца хорошо развивались в тех чашках Петри, в которых самки находились до 6 часов, а во всех остальных чашках где самки находились более продолжительное время, развитие яиц шло медленно, а в некоторых случаях личинки в яйцах совсем не развивались. Это можно объяснить накоплением продуктов жизнедеятельности самок, которые действовали отрицательно на развитие зародыша в яйце.

3. Влияния внешних условий на жизнеспособность яиц и личинок *A. anseris*

Развитие яиц в воде. Для установления возможности развития яиц *A. anseris* на различной глубине в воде, брались свежие, только что отложенные самками яйца и опускались в воду в сосудах на глубину 5—10—15—20—30 и 50 см. Сосуды вкапывались в землю в саду. Ежедневное наблюдение за развитием яиц показало, что яйца в воде развиваются нормально. За 6 суток из 90% яиц вылупились личинки, а в остальных яйцах личинки активно двигались.

Развитие яиц в естественных условиях (на пастбище).

Фецес от сильно зараженных амидостоматозом гусей, проверялись по Фюллеборну на предмет обнаружения в них яиц, затем разбавлялись волюю до кашицеобразной консистенции, распределялись тонким слоем на специально огороженном участке пастбища площадью в 1 м². Ежедневно исследовалась трава и земля с данного участка по Фюллеборну и Берману. В течение первых трех дней в исследуемом материале обнаруживались лишь только яйца *A. anseris*, причем на 2—3 день во многих яйцах были уже сформированы личинки. Во все последующие дни вплоть до 13 дня обнаруживались по Фюллеборну яйца с личинками, а по Берману активно двигающиеся личинки *A. anseris*. После 13 суток находили личинок, яиц не было.

Одновременно с этим производились наблюдения за развитием и формированием личинки в яйце. Полученные нами данные подтверждают результаты работы Скарбилович.

*Горизонтальная и вертикальная миграция личинок *A. anseris* во внешней среде.* Имея литературные данные о том, что личинки *A. anseris* мигрируют по стенкам сосудов, мы задались целью изучить миграцию личинок непосредственно в почве и на траве. Для выяснения этого вопроса в саду были отведены два участка земли размерами в 1 м² каждый. На участке № 1 укладывались слоем на 1 см² фекалии от зараженных гусей, а участок № 2 поливался разведенными пополам с водой фекалиями. Ежедневно брались порции фекалий, верхнего слоя почвы и травы как с территории самих участков, так и на различных расстояниях от участков и подвергались исследованию по Берману. При исследовании материала на -й день личинки обнаружены были в фекалиях, в верхних слоях почвы и на траве.

При дальнейших исследованиях личинки *A. anseris* обнаружались нами не только в материале, взятом с территории участков, но и за пределами их на расстоянии, не превышающем 3—4 сантиметра от границы, т.е. от месторасположения фекалий.

Параллельно с этим, для изучения вертикальной миграции личинок *A. anseris* трава, имеющая высоту 10—12 см на опытных участках срезалась послойно: первый слой верхушки равнялся $\frac{1}{3}$ общей высоты травы, второй слой—средняя часть травы и третий слой—прикорневая часть травы, составляющая тоже одну треть общей высоты. При исследовании каждого слоя травы по Берману установлено, что много личинок находилось на прикорневой части травы, значительно меньшее количество личинок обнаружено в среднем слое и совершенно отсутствовали личинки на верхнем слое травы.

Выхождение личинок из яиц. Выхождение личинок из яиц, по нашим наблюдениям, начинается к концу третьих и в начале четвертых суток. Через 6 суток уже большинство личинок вылупляется из яиц, но все-таки вылупление продолжается до 12—13 суток.

Срок инвазионности личинок. Только что отложенные самками яйца *A. anseris* были помещены в физиологический раствор и выращивались в термостате при $t^{\circ} 23^{\circ}\text{C}$, 62 часа.

Небольшая часть личинок за это время уже вылупилась из яиц. Такая 62-часовая культура была скормлена стерильному гусенку № 14. Гусенок, как до заражения, так и после заражения, содержался изолированно от остальных гусят. Через 10 дней после заражения гусенок каждый день подвергался копрологическому обследованию по Фюллеборну. Только через 22 дня после заражения в фекалиях гусенка № 14 были обнаружены яйца *A. anseris*. При дальнейшем копроанализе ежедневно в течение 8 дней обнаруживались яйца паразита. Результаты копроанализа указывали на то, что гусенок № 14 инвазирован паразитами. На 30-й день после заражения гусенок прирезан. При вскрытии гусенка в мышечном желудке было найдено 27 взрослых паразитов.

Таким образом, личинки *A. anseris* при благоприятных условиях становятся инвазионными через 62 часа.

Жизнеспособность личинок A. anseris во внешней среде и в воде. Для установления жизнеспособности инвазионных личинок в воде—только что вылупившихся их помещали в стеклянные сосуды с водой глубиной 10—30—50 см. Сосуды закапывались в землю на глубину, равную уровню налитой в нем воды. В каждый сосуд помещалось до 50 личинок. Периодически наблюдая за личинками, нам пришлось установить гибель всех личинок в разное время, в зависимости от глубины воды в стаканах (результаты опытов приводятся в таблице № 1).

Жизнедеятельности личинок в воде на разной глубине.
(В каждый сосуд опускалось по 50 личинок).

Таблица № 1

Время пребывания личинок в воде	Г л у б и н а в о д ы .					
	10 см.		30 см.		50 см.	
	Кол-во личинок оставш. в живых	%	Кол-во личинок оста ш. в живых	%	Кол-во личинок оставш. в живых	%
10 дн.	37	74	27	54	6	12
15 "	25	50	7	14	0	0
20 "	6	12	0	0	0	0
25 "	0	0	0	0	0	0

Последним вопросом, который мы изучали из области жизнеспособности яиц и личинок во внешней среде, был вопрос о возможности перезимования личинок в естественных условиях. Для этой цели в 1938 году в саду было отведено 4 изолированных участка; на трех из них в разное время (1/IX, 15/IX и 1/X) были разбросаны, фекалии, зараженные яйцами *A. anseris*, а на четвертый участок выпустили 10 штук сильно зараженных амидостоматозом гусят, которые паслись на нем с 1/VII по 1/XI, т.е.—в течение 4-х месяцев. Трава и земля на всех 4 участках осенью 1938 г. исследовалась на присутствие личинок паразита. Во всех случаях были найдены живые личинки. Особенно много было найдено личинок на участке, где паслись зараженные гуси. Через зиму, в мае месяце 1939 года, на все четыре участка были выпущены маленькие гусята: на первые три участка по два гусенка на каждый участок, а на четвертый—шесть гусят. При исследовании травы и земли из участков личинок *A. anseris* не было найдено. Вначале периодически, а потом ежедневно проводился копроанализ всех вышеуказанных гусят. Гусята в течение всего опыта оставались незараженными амидостоматозом. В конце августа, т.е.—через четыре месяца со дня выпуска гусят на опытные участки, гусята все были прирезаны. При вскрытии гусят в мышечном желудке паразитов не оказалось.

Развитие *A. anseris* в организме дефинитивного хозяина

Динамика развития паразита в организме гуся. В виду того, что в литературе не было никаких данных, говорящих о поведении личинки *A. anseris* в организме дефинитивного хозяина, мы поставили ряд опытов по выяснению этого вопроса. Инвазионный материал получался выше-

указанными тремя способами. Инвазионные личинки имели следующие размеры: Средняя длина 0,683 мм. при ширине в области границы пищевода и кишечника 0,0119 мм., ширина по середине тела 0,0114 мм, длина хвостового конца 0,077 мм; личинки обладали большой подвижностью. Под опытом было 9 стерильных гусят возрастом около 2-х месяцев, весом от 1 до 2-х килограмм. Все гусята, как до опыта, так и после опыта содержались изолированно. Для каждого гусенка была отведена отдельная клетка. Каждому гусенку было дано от 98 до 215 инвазионных личинок. Личинки задавались гусятам утром натошак с небольшим количеством корма, состоящего из смеси: овсяной и гороховой муки, мелко измельченной травы и воды.

В целях выяснения поведения личинки *A. anseris* в организме дефинитивного хозяина и быстроты ее роста, зараженные гусята убивались через каждые 1—2 дня. Содержимое пищевода, мышечного и железистого желудков, тонкого и толстого отделов кишечника, исследовались по методу Бермана. Кровь частично исследовалась в толстой капле и в виде мазков. Все внутренние органы исследовались компрессорным методом. Первый гусенок № 5 был убит через 2 дня после заражения. При вскрытии данного гусенка лишь только в содержимом железистого желудка было найдено 15 личинок *A. anseris*; средняя длина личинок 0,680 мм, максимальная ширина тела в области задней части пищевода 0,025 мм. Ширина по середине тела 0,017 мм., длина хвостового конца 0,034 мм. В содержимом всех остальных органов, а также в самих органах личинок не обнаружено. Второй гусенок № 6 был прирезан через 3 дня после заражения. При вскрытии этого гусенка личинки *A. anseris* обнаружены были тоже только в содержимом железистого желудка. Длина такой личинки 0,682—0,688 мм, ширина в области границы пищевода с кишечником 0,020 мм., ширина по середине тела 0,017 мм, длина хвостового конца 0,083 мм.

Спустя четыре дня был убит третий гусенок № 7. По Берману из железистого желудка были получены личинки длиной 0,790—0,946 мм, ширина тела в области границы пищевода с кишечником 0,047 мм, ширина по середине тела 0,026 мм.

Через 5 суток прирезан четвертый гусенок № 8. Большинство личинок *A. anseris* было найдено в мышечном желудке, находящихся как в содержимом желудка, так и внедрившись в подслизистую его. Личинки длиной 1,785 мм, шириной на границе пищевода и кишечника 0,043, ширина по середине тела 0,043 мм, длина хвостового конца 0,102 мм.

У вышеуказанных личинок уже была заметна дифференциация полов. У самцов хвостовой конец был шире, чем у самок и заметно вырисовывалась бурса.

На 7-е сутки прирезали пятого гусенка № 9. Личинки находились только лишь в мышечном желудке, прикрепившись к подслизистой оболочке. Длина личинки 1,830 мм, ширина тела в области границы пищевода и кишечника 0,054 мм, ширина по середине тела—та же самая 0,054 мм длина хвостового конца 0,102 мм.

Спустя 7 суток убит шестой гусенок № 10. Личинки находились в мышечном желудке. Длина личинки 2,028 мм, ширина тела на границе пищевода и кишечника 0,062 мм, длина пищевода 0,855 мм, длина хвостового конца 0,399 мм. У самцов хорошо заметна бурса. Через 8 суток был прирезан седьмой гусенок № 11. Личинки найдены в мышечном желудке. Длина паразита 3,270 мм, ширина в области границы пищевода и кишечника 0,062 мм, длина пищевода 0,846 мм. Хорошо у самцов видна бурса и две равные спиккулы, у самки вульва. Заметна небольшая ротовая капсула.

Спустя 15 суток после заражения убит восьмой гусенок № 12. Паразиты в количестве 48 штук найдены в мышечном желудке. Длина паразита 8,457 мм, ширина на границе пищевода и кишечника 0,095 мм, длина пищевода 0,456 мм. Максимальная ширина 0,114 мм, длина хвостового конца 0,228 мм, некоторые паразиты достигали длины до 12 мм.

Через 20 дней, после заражения прирезан девятый гусенок № 13. При вскрытии паразиты в количестве 72 штук были найдены в мышечном желудке. Самец—длина паразита 12,829 мм, ширина в области границы пищевода с кишечником 0,188 мм, длина пищевода 0,950 мм., ширина в области бурсы 0,190 мм, длина спиккулы 0,320 мм. В большинстве паразиты были довольно развиты и около 50% половозрелые.

В дополнение к этим опытам, в целях установления срока, в течение которого инвазионные личинки *A. anseris*, попав в организм дефинитивного хозяина, вырастают в половозрелых особей, был поставлен опыт на четырех гусятах полуторамесячного возраста.

Гусенку № 1—дано с кормом 88 личинок.

„	№ 2	„	213	„
„	№ 3	„	139	„
„	№ 4	„	192	„

Через 10 дней после заражения гусята подвергались ежедневно коопроанализу по Фюллеборну с целью установления срока выделения ими яиц. Яйца в фекальных массах удалось обнаружить у двух гусят №№ 3 и 4 лишь только на 17-е сутки. У двух остальных гусят №№ 1 и 2 яйца *A. anseris* в фекальных массах обнаружены на 22 день.

Количество яиц в препарате 1—7 штук. При дальнейших исследованиях фекалий от указанных гусят количе-

ство яиц в препарате 10—15 штук. Потом через разные сроки гусята были прирезаны и вскрыты.

Первый гусенок № 4, был прирезан через 10 дней после заражения. При вскрытии в мышечном желудке найдено 32 паразита: 21 самец и 11 самок. Паразиты длиной от 8 до 22 мм.

Гусенок № 2 убит через 102 дня после заражения. При вскрытии в мышечном желудке обнаружено 60 половозрелых паразитов *A. anseris*. Гусенок № 3 прирезан через 103 дня, а гусенок № 1 через 108 дней, в обоих случаях в мышечном желудке найдены половозрелые паразиты от 50 до 96 штук.

В ы в о д ы

1. Яйца *A. anseris* в воде глубиной до 50 см развиваются нормально.

2. Личинки *A. anseris*, погруженные в воду глубиной 10 см., погибают через 25 дней, глубиной 30 см—через 20 дней и глубиной 50 см—через 15 дней.

3. Во внешней среде (траве, земле) летом в июле м-це при t° 25—28 $^{\circ}$ C вылупление личинок из яиц начинается к концу третьих суток и продолжается до 12 дней.

4. Шестидесятидвухчасовой культурой яиц *A. anseris* экспериментально удается заразить гусят.

5. Инвазионные личинки *A. anseris* мигрируют вертикально по стеблям травы вышиной до 8 см и горизонтально до 4-х см.

6. Личинки на выпасах за зиму погибают и бывший зараженный выпас можно использовать гусятами в следующем году.

7. Личинки *A. anseris*, попав в организм дефинитивного хозяина, миграции по кровяной и лимфатической системе не совершают, а достигают мышечного желудка, непосредственно проходя через глотку, пищевод и железистый желудок.

8. При вскрытии экспериментально зараженных гусят на 2—5 день со дня заражения, личинок *A. anseris* обнаружили в железистом желудке. Личинки 2-х дневного возраста почти ничем не отличаются от инвазионных личинок (до заражения). Личинки с 4-х дневного возраста несколько выросли, но не имели никаких признаков дифференциации полов. При вскрытии гусят на 5—6—7—8—15 и 20 дни паразиты *A. anseris* были обнаружены в мышечном желудке; начиная с 6 суток уже заметны признаки дифференциации полов.

9) Инвазионные личинки *A. anseris* попадают в организм гуся с кормом и водой и вырастают у половозрелых особей, уже способных откладывать яйца на 17—22 дни.