



## БИОЛОГИЯ

УДК 616.981.452 – 036.22:616.981.452-036.21

### ОЦЕНКА ЭПИЗОТОЛОГИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ БЛОХ (*INSECTA, SIPHONAPTERA*) В ФЕНОМЕНЕ СЕЗОННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ЧУМЫ В СТЕПНЫХ ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ ЧУМЫ СУСЛИКОВОГО ТИПА СЕВЕРНОГО, СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ПРИКАСПИЯ И ПРЕДКАВКАЗЬЯ

Н. В. Попов<sup>1</sup>, В. В. Аникин<sup>2</sup>, А. И. Удовиков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов  
E-mail: Popovnv47@mail.ru.

<sup>2</sup>Саратовский государственный университет  
E-mail: anikinVASiliiV@mail.ru

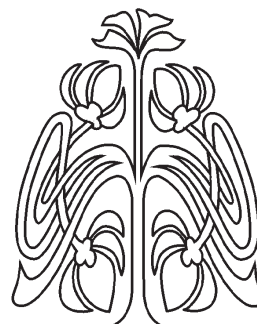
Установлено, что сроки начала летних интенсивных эпизоотий в равнинных природных очагах чумы сусликового типа в Северном, Северо-Западном Прикаспии и Предкавказье совпадают с периодом миграций взрослых малых сусликов на понижения рельефа, строительства защитных нор, формирования микропопуляций блох в временных жилых норах. Обоснованно наличие механизма, не связанного с абсолютными показателями численности блох в шерсти и норах малых сусликов, обуславливающего сезонный характер заражений зверьков на протяжении 30–40 дней (III декада мая – II декада июня) на одних и тех же участках очаговых территорий. Обоснованно, что феномен сезонности, равно как и микроочаговости, проявлений чумы связан, в первую очередь, с заносом чумного микроба в организм блох на различных стадиях их метаморфоза представителями почвенной биоты (паразитическими нематодами, простейшими) на участках, в границах которых эдафические факторы (влажность, наличие органических веществ и др.) наиболее благоприятны для сохранения и воспроизводства чумного микроба.

**Ключевые слова:** механизм энзоотии чумы, природные очаги чумы сусликового типа, блохи (*Insecta, Siphonaptera*), малый суслик (*Spermophilus pygmaeus* Pallas, 1778), формирование микропопуляций блох, микроочаговость, биопленка чумного микроба, паразитические нематоды.

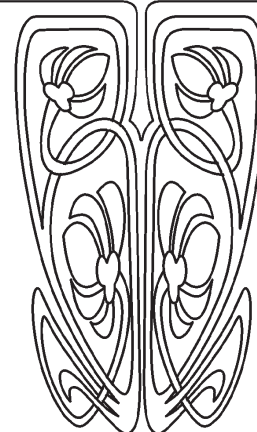
**Assessment of Epizootiological Value of Fleas (*Insecta, Siphonaptera*) in the Phenomenon of Seasonal Plague Manifestations in the Steppe Natural Plague Foci of Sousek Type in the Northern, North-Western Pre-Caspian and Pre-Caucasus Regions**

**N. V. Popov, V. V. Anikin, A. I. Udovikov**

It has been determined that timescales of the beginning of summer intensive epizootics in the plain natural plague foci of souslik type in the Northern, North-Western Pre-Caspian and Pre-Caucasus Regions coincide with the period of adult small sousliks migration to the landscape lowering, building of protective burrows, and formation of flea micro-populations in them. Substantiated is existence of the mechanism that determines seasonal character of animals infecting during 30–40 days (III decade of May – II decade of June) at the same sites of focal territory. This mechanism is not connected with absolute indices of flea abundance in the hair and burrows



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





of animals. The phenomenon of seasonality and micro-focality of plague manifestations is demonstrated to be associated primarily with plague microbe transfer in the organism of fleas at different stages of their metamorphosis, by the representatives of soil biota (parasitic nematodes and protozoa), at the sites with edaphic factors (humidity, availability of organic substances, etc.) most favorable for preservation and maintenance of plague agent.

**Key words:** plague enzooty mechanism, natural plague foci of souslik type, fleas (*Insecta, Siphonaptera*), small souslik (*Spermophilus pygmaeus* Pallas, 1778), formation of flea micro-population, micro-focality, plague microbe biofilm, parasitic nematodes.

### Введение

Согласно литературным данным [1,2] для равнинных природных очагов чумы сусликового типа, расположенных в зоне сухих степей и полупустынь Северного, Северо-Западного Прикаспия и Предкавказья, характерно наличие двух периодов регистрации зараженных животных. Первый – ранне-весенний, отмечен во время прохождения гона в популяции малого суслика – *Spermophilus pygmaeus* Pallas, 1778; второй – летний, совпадает с расселением его молодняка. Эпизоотии чумы, регистрируемые среди сусликов вскоре после пробуждения, редко обнаруживаются и отличаются низкой интенсивностью [3]. Редкость обнаружения ранне-весенних эпизоотий хорошо согласуется с малой вероятностью переживания зимнего периода зараженными носителями и переносчиками [4, 5]. Летние эпизоотии, напротив, регистрируют на большом числе участков, а интенсивность их бывает очень высока. Механизм возникновения летних эпизоотий вплоть до настоящего времени остается неизученным. Согласно сложившимся в первой половине прошлого столетия представлениям, развитие летних эпизоотий связано с выплодом летних генераций блох вида *Citellophilus tesquorum* Wagner, 1898 и расселением молодняка малого суслика. Однако при очередной активизации природных очагов чумы сусликового типа в Северном и Северо-Западном Прикаспии в 1978–1991 гг. было четко установлено, что сроки начала эпизоотий совпадают с периодом начала миграций взрослых малых сусликов на понижения рельефа, строительства защитных нор, формирования микропопуляций блох в новых гнездах за счет заноса их в шерсть сусликов, пика численности личинок блох и выплодом имаго в временных жилых норах. Для расшифровки этого феномена выполнена оценка эколого-эпизоотологической значимости блох в феномене сезонности проявлений чумы и рассмотрен возможный механизм, обеспечивающий микроочаговый характер ее проявления.

### Материал и методы

Работа проводилась на территории Урало-Кушумского междуречья (Республика Казахстан, Уральская область) и западной части Прикаспийской низменности (Республика Калмыкия) в 1978–1991 гг. Наблюдением охвачен весь период активной жизнедеятельности малого суслика (с марта по июль). В анализ включены данные по видовому составу и численности блох по раскопкам 363 нор различного типа, в том числе 275 временных наклонных и 58 гнездовых с вертикальным выходом. Для характеристики многолетней динамики обилия блох малого суслика использовали материалы банка унифицированных данных при ФКУЗ «РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора. В анализ включены данные очеса 224409 экз. малого суслика, 433347 экз. блох шерсти и 217451 экз. блох входов нор, зимовочных и летних гнезд этого грызуна. Обработаны данные по территориям, где в 1978–1989 гг. хотя бы один раз регистрировали зараженных чумой животных. Для установления особенностей динамики численности блох и интенсивности заражения животных использовали относительный показатель – «индекс сезонности», представляющий отношение (в процентах) индекса анализируемого показателя за данную декаду к подекаднему среднему за весь срок наблюдений [6].

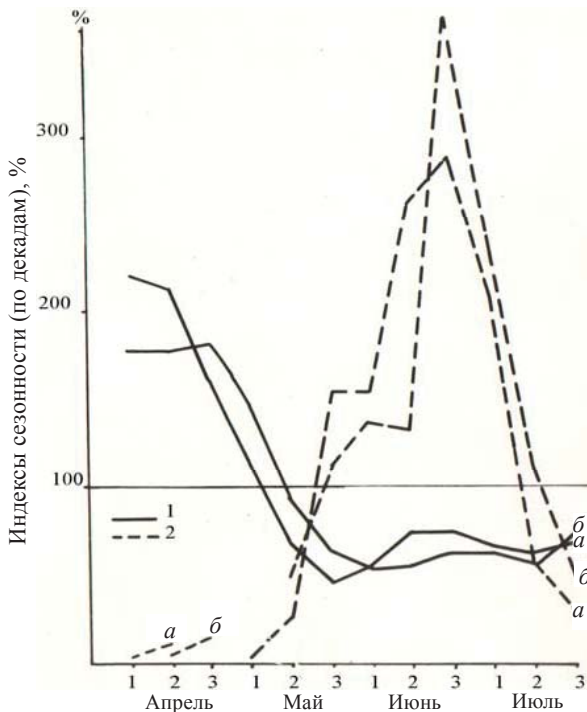
### Результаты и их обсуждение

Материалы лабораторных полевых исследований проб полевого материала с территории Волго-Уральского степного и Зауральского степного природных очагов чумы в 1978–1989 гг. показали, что в период гона (апрель) эпизоотии чумы обнаружены на пяти участках. Количество проб с зараженными животными в I–II декадах апреля составляло 0,8–2,0%. Причем все зараженные животные обнаружены на участках, где предыдущим летом имело место развитие эпизоотий чумы. Последнее подтверждает точку зрения о том, что единичные находки зараженных чумой сусликов в период пробуждения и гона зверьков представляют собой «следы» эпизоотий предыдущего года. При этом редкость их обнаружения соответствует данным о вероятности сохранения зараженных блох на прошлогодних эпизоотических участках до весны текущего года. В связи с низкими показателями алиментарной активности блох малого суслика ранней весной, равно как и уровня паразитарного контакта в период пробуждения и гона, ранне-весенние заболевания сусликов не вызывают развития интенсивных эпизоотий и не приводят



к созданию «запаса» зараженных блох. Показательно, что в последующем, в период с 1–20 мая, зарегистрировано только 10 эпизоотических участков, где обнаружены единичные находки зараженных животных, а в период с 20 мая по 20 июня эпизоотии чумы выявлены в 182 местах.

В результате анализа сезонной динамики численности блох в шерсти малых сусликов установлено, что максимальные их значения отмечены в апреле – 4,1–5,2, минимальные – во II–III декадах мая – 0,9–1,2 и в июне – 1,0–1,4. Для суждения об изменениях численности всей популяции блох учитывали индекс приуроченности (долю блох, находящихся в шерсти зверьков). По данным полного облова эпизоотических участков, проведенного в 1981–1987 г., в апреле шерсти находится не более 20% всей популяции блох (индекс приуроченности к хозяину равен – 0,2), а в июне – не менее 70%. Поэтому диапазон сезонных изменений количества блох, приходящихся на одного зверька, значительно больше: в апреле от 20–25 экз.; в июне–июле – до 1,5–2,0 экз. Выполненное сопоставление индексов сезонности обилия блох шерсти зверьков и частоты выявления эпизоотических участков показало, что наибольшая эпизоотическая активность очага совпадает с сезоном наименьшего обилия блох (рисунок).



Динамика декадных индексов сезонности численности блох в шерсти малых сусликов (1-а, б) и числа положительных проб (2-а, б) в апреле–июле 1978–1987 гг. в Волго-Уральском (а) и Зауральском (б) природных очагах чумы

Нами выполнен также и анализ другого аспекта изучаемой связи — оценка приуроченности находок зараженных животных к местам повышенного обилия блох. Результат обработки показал, что эпизоотии чумы регистрировали во всех установленных на эпизоотических участках грациях обилия блох от 0,1–0,5 до 4,1–6,1. Последнее свидетельствует, косвенно, об отсутствии зависимости частоты выявления эпизоотических участков от абсолютных показателей численности блох, т.е. подтверждает отсутствие каких-либо оснований для выделения «предпочтительного» для развития эпизоотий уровня их численности. При этом в период со II декады мая до конца июня в пробах полевого материала отмечен практически одинаковый уровень зараженности малых сусликов (5,3–8,1%). Статистическая проверка отличий от равномерного распределения по критерию Пирсона показала, что сумма квадратов отклонений не превышает половины критического значения, причем как в отдельных группах, так и при суммировании данных по очагам. Последнее однозначно указывает на наличие определенного фактора, не связанного с абсолютными показателями численности блох в шерсти и зимовочных норах малых сусликов, обуславливающего стабильный характер заражений зверьков на протяжении 30–40 дней (III декада мая – II декада июня) на одних и тех же участках территории природных очагов чумы Северного и Северо-Западного Прикаспия.

Крупномасштабная съемка эпизоотических участков [7], а также анализ материалов обследования очагов показали, что находки чумных зверьков и эктопаразитов почти во всех случаях приурочены к понижениям рельефа с мезофильной растительностью, на которых концентрируются малые суслики в период наживровки перед спячкой. Особенно ярко эта особенность пространственной структуры эпизоотий чумы проявляется в тех случаях, когда понижения рельефа (на них обычно строятся колодцы и стоянки животноводов) удалены одно от другого на 2–5 км. В летний период на таких выравненных скотобоем участках, поросших в основном спорышем (*Polygonum aviculare* L.), растительность по сравнению с окружающей территорией выгорает значительно позже. В июне–июле в ландшафте отчетливо выделяются многочисленные «зеленые пятна» растительности, служащие местами концентрации малого суслика в период кормовых миграций. Общим для всех таких «зеленых пятен» является отсутствие на них зимовочных нор и следов активной норовой деятельности в период выхода сусликов из спячки, гона и нача-



ла щенения. Первые свежие выбросы земли на таких участках отмечены в разные годы наблюдения в период 5–13 мая. До конца мая частота посещения пятен быстро нарастает и в конце месяца кормовые миграции сусликов становятся массовыми. Даты регистрации первых культур чумного микроба совпадают, как правило, с началом миграций малых сусликов на «зеленые пятна». Пик миграционной активности малых сусликов наступает в период выхода молодняка и его расселения. При этом в многолетнем аспекте большинство сусликов использует прошлогодние индивидуальные участки. Это свидетельствует в пользу наличия обратных миграций малых сусликов, их привязанности к постоянной норе и индивидуальному участку, консервативности в выборе места залегания. Все это указывает на возможность заражения мигрирующих особей из года в год на одних и тех же местах. В период до начала расселения молодняка основную массу мигрирующих на понижения рельефа малых сусликов составляют кормящие самки (75–85%), которые перед окончанием лактации активно ищут благоприятные для наживки места. Самцы и яловые самки к этому времени уже заканчивают наживку и поэтому менее подвижны.

Кормовые миграции взрослых сусликов на понижения рельефа наиболее выражены в конце

мая – начале июня. Взрослые зверьки расчищают прошлогодние и строят новые наклонные «защитные» норы [8]. В таких «временно жилых норах» наиболее часто регистрируют гнездовой материал, личинок и имаго блох. Заселение нор блохами происходит исключительно за счет заноса их в шерсти хозяев. Относительно высокая температура, связанная с неглубоким залеганием гнезда, и повышенная влажность грунта способствуют ускорению метаморфоза и повышают суточную яйцепродукцию. Кроме того, за счет неоднократной смены хозяев происходит поступление новых экземпляров паразитов. Все это в целом приводит к довольно быстрому формированию микропопуляции блох в новых гнездах за счет заноса их в шерсти сусликов. Показатели численности блох и сроки массового появления их личинок в гнездах временных нор представлено в таблице. Полученные данные однозначно доказывают, что период развития эпизоотий чумы на понижениях рельефа совпадает во времени с пиком численности личинок блох и выплодом имаго в временных жилых норах. По мере роста температуры и снижения влажности почвы в июле эпизоотии чумы среди малых сусликов в полупустынях Северного, Северо-Западного Прикаспия и Предкавказья прекращаются.

**Обилие блох в гнездах временных жилых нор на понижениях рельефа на территории Волго-Уральского степного природного очага в 1981–1989 гг.**

Месяц	Количество добытых гнезд	Индексы обилия блох			Количество личинок блох
		<i>N. setosa</i>	<i>C. tesquorum</i>	Общий для всех видов блох	
Май	10	7,4	4,1	12,9	200
Июнь	10	8,7	19,7	30,5	1710
Июль	10	4,2	9,2	39,8	870

При рассмотрении непосредственной причины заражений сусликов приходится полностью отклонить предположение о сохранении в зимний и весенний периоды зараженных блох в мелких норах, укрытиях на мезофильных понижениях. Дело в том, что вскоре после залегания сусликов эти норы засыпаются, а после осенних дождей и весеннего таяния снега оказываются заполненными жидкой грязью в смеси с органикой. Выживание блох в таком субстрате исключается. Даже сохранение чумных блох в глубоких постоянных норах маловероятно. Эпизоотические участки, как уже говорилось, локальны (в большинстве случаев – 20–40 га). Поэтому число зараженных блох на участке очень невелико (несколько десятков), причем это насекомые старших физиологических возрастов,

отмирающие вскоре после залегания сусликов.

Подчеркнем, что несмотря на то что на малом суслике и в его норах в Северном, Северо-Западном Прикаспии и в Предкавказье зарегистрировано более 20 видов блох, основу паразитофауны составляют два вида *Neopsylla setosa setosa* Wagner, 1898 и *C. tesquorum* [9]. Причем пик размножения *N. setosa* приходится на время жизни сусликов в выводковых и зимовочных гнездах, совпадая с периодом гона, щенения и, отчасти, выкармливания молодняка. С пробуждением малых сусликов от зимней спячки совпадает выплод основной массы молодых имаго *N. setosa*. Максимальное обилие *Cit. tesquorum* также имеет место весной, сразу после выхода малых сусликов из спячки. Причем в выводковых гнездах отмечается масса личинок всех возра-



тов. Однако этот самый крупный сезонный подъем численности блох в зимовочных гнездах малого суслика не сопровождается ростом зараженных чумой малых сусликов. Этот факт свидетельствует о том, что в развитии эпизоотии определяющую роль играет не только численность эффективных переносчиков чумы. В дальнейшем, вплоть до выплода летних генераций блох вида *C. tesquorum*, численность имаго блох в норах, гнездах и шерсти зверьков уменьшается.

Период устройства новых зимовочных гнезд и залегания в спячку малых сусликов совпадает с годичным минимумом численности имаго паразитирующих на них блох. Основная часть популяции паразитирующих на малых сусликах блох в период залегания малых сусликов в спячку находится на преимагинальных стадиях развития в оставленных зверьками гнездах. Завершение метаморфоза, таким образом, происходит в брошенных гнездах. Сопоставляя данные по возрастному составу популяций основных видов блох в июне (время развития эпизоотии), можно сказать, что шанс дожить до следующей весны имеется всего у 2% *N. setosa* и у 25% *Cit. tesquorum*; остальные (особи IV–VI возрастов) отмирают вскоре после залегания малого суслика в спячку. Заметим, что при принятых методиках определяется не календарный, а физиологический возраст блох, то есть степень изношенности организма. В связи с этим сохранение чумного микроба в блохах малого суслика в течение 9–10 месяцев, т.е. до летних эпизоотий следующего года, маловероятно, так как задолго до их начала немногие жизнеспособные особи, пережившие осень и зиму, либо обретают хозяев в результате активных весенних миграций, либо погибают [10].

Соответственно выполненные ранее оценки вероятной частоты переживания зимнего периода малыми сусликами, зараженными чумой в естественных условиях, равно как и при проведении лабораторных опытов, однозначно свидетельствуют о том, что абсолютное большинство зараженных перезимовавших зверьков погибает в первые дни после пробуждения (в природе это конец февраля–начало марта). Только единичные зараженные особи имеют шанс дожить после пробуждения до конца марта – начала апреля; т.е. до периода, когда начинается интенсивное эпизоотологическое обследование. Все сказанное не позволяет связывать летние эпизоотии с заражением сусликов, имевшим место в предшествующем году или ранней весной. Причем это заключение в равной степени относится как к эпизоотиям на новых участках, так и регистри-

руемым на одном месте несколько лет подряд. Последнее позволяет допускать существование в природе своеобразного механизма, обеспечивающего в многолетнем аспекте эффективное заражение сусликов на одних и тех же участках строго в определенный временной интервал (II декада мая–июнь). Отмеченная выше приуроченность мест регистрации зараженных животных к понижениям рельефа позволяет считать, что отправной точкой отсчета начала действия этого механизма является занос блох *C. tesquorum*, равно как и других фоновых видов, в формирующиеся здесь в период кормовых миграций малых сусликов временные жилые норы. Активная кладка яиц блохами продолжается здесь 20–25 дней. Учитывая, что при температуре 18–24°C развитие блох *C. tesquorum* от яйца до имаго происходит в течение 20–25 дней, можно констатировать, что развитие летних эпизоотий совпадает с периодом выплода имаго блох на понижениях рельефа. В связи с тем что личинки блох, равно как и «не пившие» имаго (с меконием), практически не исследуются на наличие чумного микроба, оценки их эпизоотологической значимости вплоть до настоящего времени не проводилось. Единственный случай регистрации личинок блох вида *Oropsylla silantiewi crassa* Jordan et Rothschild, 1911, зараженных чумой, отмечен на участках стойкого ее проявления в высокогорьях Хангая [11].

Подчеркнем, что на протяжении XX столетия в качестве основного механизма поддержания эпизоотической активности природных очагов чумы в сезонном и многолетнем аспектах рассматривалась трансмиссивная передача возбудителя этой инфекции по цепочке грызун–блоха–грызун [12–14]. Теоретической основой этой гипотезы служат представления об облигатном паразитизме возбудителя чумы и наличия в очагах постоянно текущих эпизоотий. Хотя при этом допускалось временное (в перерывах между эпизоотиями) сохранение возбудителя чумы в объектах внешней среды [15–17]. Факты, полученные в XX столетии при изучении пространственно-временных особенностей проявления чумы, вошли в противоречие с классическими представлениями [18,19]. Вместе с тем, опираясь на огромный фактический материал, полученный при изучении природной очаговости чумы, в 70–90-х гг. прошлого столетия выдвинуто общее положение о наличии в природе механизма «первичных» заражений [20]. Причем среди условий, необходимых для действия такого механизма, рассматривалась возможность существования измененной формы чумного микроба во внеш-



ней среде, независимо от организма носителей. Последнее значительно усилило интерес исследователей к различным модификациям гипотезы «теллурической» чумы, в том числе как к феномену длительного сохранения чумного микроба в почве нор [21–23], либо в продуктах метаболизма носителя или переносчика [24, 25]. Также стали формироваться представления о симбиозе возбудителя чумы с сапрофитной микрофлорой, содержащейся в субстрате нор грызунов [26, 27]. Первые же работы, выполненные по изучению возможности длительного обитания возбудителя чумы в почвенных микроорганизмах, показали перспективность этого направления для объяснения механизма энзоотии чумы [28–30]. Все это в целом послужило косвенным основанием для обоснования гипотезы о том, что чумной микроб может длительно существовать в почве в некультивируемом виде. Однако вплоть до настоящего времени кровососание рассматривается в качестве единственного способа инфицирования блох возбудителем чумы *Yersinia pestis* [31].

В качестве альтернативы обоснована гипотеза о наличии в природе механизма, обеспечивающего автономную передачу чумного микроба из почвенного биоценоза в организм блох на разных стадиях их метаморфоза. При этом новым вкладом в теорию природной очаговости чумы явилось открытие способности чумного микроба к образованию биопленок, представляющих собой сообщества клеток, окруженных внеклеточным матриксом [32, 33]. Биопленка, подобно спорам бактерий, может обеспечивать длительное сохранение чумного микроба во внешней среде [34]. Появление качественно новой информации по экологии чумного микроба создало предпосылки к очередной ревизии сложившихся представлений. В частности, современные данные о биопленках чумного микроба позволили расширить современные представления о феномене образования блока преджелудка блох, играющего «ключевую» роль в классической концепции механизма энзоотии чумы [35, 36]. В качестве первого шага к формированию новых представлений о механизме энзоотии чумы доказано, что в преджелудке блох образуются многочисленные микроколонии чумного микроба, погруженные в органическую полимерную матрицу, которые в последующем служат основой для формирования соответствующих конгломератов в преджелудке («чумной блок») [37, 38] и их сохранения («глыбки») при попадании в среднюю кишку этих насекомых. Также доказано, что ультраструктура конгломератов, регистрируемых в преджелудке и в

средней кишке блох, абсолютно идентична – их основным компонентом являются группы бактерий чумы, окруженные общей экстрацеллюлярной матричной оболочкой. Установление этого факта имеет особое эпизоотологическое значение, так как раскрывает механизм попадания чумного микроба в почву нор грызунов путем выведения из кишечника блох мелких «глыбок» при дефекации и позволяет считать, что именно феномен образования биопленки чумным микробом в организме блох служит основой длительного его сохранения в сухих фекалиях и трупах этих насекомых и в почве нор теплокровных животных.

В связи с тем что формирование биопленок чумного микроба в форме блока преджелудка блох происходит в диапазоне температур от +8 до +26°C, то при повышении температуре (выше +27°C) этот процесс замедляется [39]. Наличие относительно узкого температурного «коридора» для образования биопленок чумного микроба позволяет понять причину четко выраженной сезонности развития эпизоотий чумы в различных ландшафтно-географических зонах и поясах гор [40].

Вторым отправным моментом, косвенно подтверждающим ведущую роль биопленок в механизме энзоотии чумы, служат представления о наличии в природе механизма, обеспечивающего автономную передачу бактерий *Yersinia pestis* из почвенного биоценоза в организм блох [41, 42]. Возможность такой передачи основывается на широко известной способности нематод (*Secernentea, Rhabdidae*) активно проникать в тело насекомых, в том числе блох, наиболее специализированными паразитами, которыми являются аллантонематиды [43]. Личинки нематод, заселяя организм насекомых, вносят в него различные микроорганизмы, в том числе патогенные бактерии [44]. При этом за счет способности чумного микроба образовывать биопленку на внешних и внутренних поверхностях нематод [45] обеспечивается возможность его заноса в организм блох по цепочке: биопленка чумного микроба – личинка нематод – личинка блох – куколка блох – имаго блох. В почве свободноживущие личинки нематод могут поглощать возбудителя чумы при утилизации его биопленок и поедании различных простейших, также способных длительно сохранять чумного микроба [46]. Реализация такой трансларвальной передачи чумного микроба с дальнейшим завершением их онтогенеза и появлением в норах теплокровных животных инфицированных имаго блох позволяет объяснить причину появления



в природных очагах единично зараженных их особей в межэпизоотический период. Этот же механизм объясняет наличие стойких участков проявления чумы, так называемых «микроочагов», в границах которых эдафические факторы (влажность, наличие органических веществ и др.) наиболее благоприятны для сохранения и воспроизводства чумного микроба. Существенно, что экологический оптимум существования в почве личинок нематод и блох, равно как и формирования биопленок чумного микроба, полностью совпадают. Последнее позволяет предполагать, что наблюдаемый в природных очагах «взрывной» сезонный и многолетний характер возникновения эпизоотий чумы происходит за счет одновременного пика численности в почве личинок блох и личинок свободноживущих нематод. При этом нельзя исключать возможность попадания возбудителя чумы в кишечник личинок блох в процессе их питания различными представителями почвенной биоты, в первую очередь простейшими.

Существенно, что для нематод блох характерна определенная очаговость распространения в пределах ареала их основных хозяев, что определяется также почвенными факторами, ограничивающими возможность существования свободноживущих их стадий развития в процессе метаморфоза. В зоне сухих степей и полупустыни лимитирующим фактором их существования является влажность почвы. Именно в связи с этим эпизоотии чумы чаще регистрируются в увлажненных, богатых органикой участках очага (понижения рельефа, приколлодезные «пятна» и др.), оптимально подходящих для обитания свободноживущих нематод, а также служащих местами концентрации сусликов в период весенне-летних засух. Все это в целом хорошо объясняет как выраженную в границах энзоотичной территории микроочаговость чумы [47], так и четко выраженную зависимость эпизоотической активности природных очагов чумы от климатических и эдафических факторов [48]. В межэпизоотические периоды возбудитель чумы, защищенный биопленкой, способен длительно сохраняться в почве, в том числе в простейших и их цистах. Наступление благоприятных условий для воспроизводства (с участием различных представителей почвенной биоты) чумного микроба в форме биопленок может служить пусковым моментом для начала эпизоотий. Именно с этим, с нашей точки зрения, связана не только четко выраженная сезонность эпизоотий, но и выраженная цикличность развития крупных эпизоотических волн [49].

## Список литературы

1. Тинкер И. С. Эпизоотология чумы на сусликах. Ростов н/Д : Ростведиздат, 1940. 97 с.
2. Миронов Н. П. Экологические факторы природной очаговости чумы в Северо-Западном Прикаспии : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Ростов н/Д, 1962. 27 с.
3. Шевченко Г. В., Солдаткин И. С., Мастюков М. Л., Агеев В. С., Попов Н. В., Ефимов С. В., Андреева Т. А. Уровень паразитарного контакта в поселениях малого суслика в полупустынях Западного Казахстана // Паразитология. 1984. № 6. С. 459–463.
4. Доброхотова Н. Д. Течение чумной инфекции в организме малых сусликов в период зимней спячки : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саратов, 1964. 16 с.
5. Брюханова Л. В. К изучению биологии и экологии блох малого суслика в Предкавказье : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 1973. 18 с.
6. Таршиш М. Г., Константинов В. М. Математические методы в эпизоотологии. М. : Колос, 1975. 174 с.
7. Попов Н. В. Дискретность – основная пространственно-временная особенность проявлений чумы в очагах сусликового типа. Саратов : Изд-во Сарат. ун-та, 2002. 192 с.
8. Гаранин О. А., Попов Н. В., Ефимов С. В., Удовиков А. И. Динамика микробиоценозов нор малого суслика // Паразитология. 1992. № 1. С. 13–19.
9. Гаранин О. А., Попов Н. В., Ефимов С. В., Удовиков А. И., Григорьева Г. В. Динамика видового состава нидиколов в различных типах гнезд малого суслика // Паразитология. 1995. № 1. С. 37–42.
10. Мялковская С. А., Пушкарев А. В. Зараженность гнезд блохами в зависимости от использования их малыми сусликами // Проблемы особо опасных инфекций. 1973. Вып. 2. С. 70–77.
11. Демидова Е. К., Емельянова Н. Д. Случай выделения микроба чумы от личинок блох *Oropsylla silantiewi* W., инфицированных в естественных условиях // Докл. Иркут. противочум. ин-та. 1971. Вып. 9. С. 231–232.
12. Фенюк Б. К. Экологические факторы очаговости чумы грызунов. 1. Эндемия чумы как экологическая проблема // Вестн. микробиологии, эпидемиологии и паразитологии. 1944. Вып. 1. С. 40–48.
13. Фенюк Б. К. Экологические факторы очаговости чумы грызунов. 2. Значение второстепенных носителей чумы // Тр. науч. конф., посвящ. 25-летию юбилею института «Микроб». Саратов, 1948. С. 37–50.
14. Павловский Е. Н. Природная очаговость трансмиссивных болезней в связи с ландшафтной эпидемиологией зооантропонозов. М. : Наука, 1964. 190 с.
15. Baltazard M., Karimi J., Eftekhari M. La conservation interepizootique de la peste en foyer inveteré. Hypothèse de travail // Bulletin de la Société de Pathologie Exotique. 1963. Vol. 56. P. 1230–1241.
16. Karimi J. Conservation naturelle de la peste dans le sol // Bulletin de la Société de Pathologie Exotique. 1963. Vol. 6. P. 1183–1186.



17. Mollaret H. H. Du bacille de la peste durant 28 mois an terrier artificiel demonstration experimentall de la peste dans ses foyers inveteres // C. R. Academy of Sciences 1968. № 267. P. 972–973.
18. Соколов В. Е., Ротшильд Е. В., Дорожко О. В. Развитие взглядов на природную очаговость болезней и современные проблемы этой концепции // Изв. АН СССР. 1984. Сер. Биол. № 4. С. 485–495.
19. Дятлов И. А. Эволюционные аспекты в природной очаговости чумы. Ставрополь : Ставроп. кн. изд-во, 1989. 198 с.
20. Солдаткин И. С., Иванов В. А. Перспективы изучения природных очагов чумы // Эпидемиология и эпизоотология чумы : сб. ст. Саратов : Изд-во Коммунист, 1980. С. 3–8.
21. Тимофеева Л. А., Головачева В. А. Итоги экспериментального изучения роли почвы в сохранении и передаче чумного микроба // Состояние и перспективы профилактики чумы. Саратов : Изд-во Коммунист, 1978. С. 21–22.
22. Донская Т. Н., Попов Н. В., Бережнов А. З., Топорков В. П., Князева Т. В., Хинц И. В., Донченко Г. Е., Суриков Н. Н. Обнаружение возбудителя чумы в почве нор малого суслика // Эпизоотология и профилактика природноочаговых инфекций : сб. ст. Саратов : Изд-во Коммунист, 1982. С. 6-9.
23. Ayyadurai S., Houhamdi L., Lepidi H., Nappes C., Raoult D., Drancourt M. Long-term persistence of virulent *Yersinia pestis* in soil // Microbiology. 2008. № 154. P. 2865–2871.
24. Кондрашкина К. И., Величко Л. Н. Анабиоз чумного микроба – одна из форм его долговременного существования во внешней среде // Проблемы особо опасных инфекций. 1980. Вып. 2. С. 23–24.
25. Величко Л. Н. Длительное выживание чумного микроба в трупах и экскрементах блох : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саратов, 1981. 20 с.
26. Лавровский А. А., Попов Н. В. Межэпизоотический период как одна из фаз саморазвития экосистемы природного очага чумы // Проблемы особо опасных инфекций. 1978. Вып. 2. С. 5–9.
27. Ларина В. С., Сагимбеков У. А., Айкимбаев А. М., Степенов В. М., Стручкова Э. Н., Узбеков Б. К., Баканурская Т. Л., Соколов П. Н. О возможности длительного сохранения чумного микроба в природе в сложном симбиозе с почвенными микроорганизмами // Материалы обл. науч. конф. Гурьевской ПЧС по профилактике особо опасных инфекций. Гурьев : Изд-во Кайнар, 1989. С. 146–154.
28. Никульшин С. В., Онацкая Т. Г., Луканина Л. М. Изучение ассоциации почвенных амёб *Hartmannella rhysodes* с бактериями – возбудителями чумы и псевдотуберкулеза в эксперименте // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1992. № 9–10. С. 2–4.
29. Пушкарёва В. И. *Salmonella tythimurium* и *Yersinia pestis* (EV) в ассоциации с простейшими: сохранение покоящихся бактерий в цистах // Материалы VIII съезда Всерос. о-ва эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. М., 2002. Т. 1. С. 232–233.
30. Литвин В. Ю. Сапронозные аспекты энзоотии чумы // Успехи современной биологии. 2003. № 6. С. 543–552.
31. Ваценок В. С. Блохи (Siphonaptera) – переносчики возбудителей болезней человека и животных. Л. : Наука, 1988. 163 с.
32. Darby G., Hsu J. W., Ghory N., Falkow S. Plaque bacteria biofilm blocks food intake // Nature. 2002. № 417. P. 243.
33. Darby C., Chakraborti A., Politz S. M., Daniels C. C., Li Tan, Drace K. *Caenorhabditis elegans* Mutants Resistant To Attachment of *Yersinia* Biofilms // J. of Genetics. 2007. № 176. P. 221–230.
34. Hall-Stoodley L., Costerton J. W., Stoodley P. Bacterial biofilms : from the natural environment to infectious diseases // National Rev. for Microbiol. 2004. Vol. 2. P. 95–108.
35. Бибикова В. А., Классовский Л. Н. Передача чумы блохами. М. : Медицина, 1972. 188 с.
36. Кутырев В. В., Коннов Н. П., Волков Ю. П. Возбудитель чумы : ультраструктура и локализация в переносчике. М. : Медицина, 2007. 224 с.
37. Коннов Н. П., Попов Н. В., Величко Л. Н., Князева Т. В. Феномен образования биопленок *Yersinia pestis* в организме блох // Паразитология. 2009. № 4. С. 330–337.
38. Jarret C. O., Deak E., Ishewood K. E., Oyston P. C., Fischer E. R., Whitney A. R., Kobayashi S. D., DeLeo F. R., Hinnebush B. I. Transmission of *Yersinia pestis* from an infections biofilm in the flea vector // J. of infections Dease. 2004. № 190. С. 783–792.
39. Eisen R. G., Gage K. L. Adaptive strategies of *Yersinia pestis* to persist during inter-epizootic and epizootic periods // Veterinary Research. 2009. Vol. 2. P. 107–121.
40. Попов Н. В., Слудский А. А., Удовиков А. И., Коннов Н. П., Караваева Т. Б., Храмов В. Н. Оценка роли биоплёнок *Yersinia pestis* в механизме энзоотии чумы // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2008. № 4. С. 118–120.
41. Попов Н. В., Слудский А. А., Удовиков А. И., Анкин В. В., Яковлев С. А., Караваева Т. Б. К роли нематод [*Secernentae*, *Rhabdidae*] – паразитов блох в энзоотии чумы // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье. Саратов : Изд-во Сарат. ун-та, 2006. Вып. 5. С. 88–93.
42. Kutyrev V. V., Eroshenko G. A., Popov N. V., Vidyayeva N. A., Konnov N. P. Molecular mechanisms of interactions of plague causative agents with invertebrates // Molecular Genetics, Microbiology and Virology. 2009. Vol. 4. P. 169–176.
43. Рубцов И. А. Паразиты и враги блох. Л. : Наука. Ленингр. отд-ние, 1981. 99 с.
44. Adams B. J., Fodor A., Koppenhöfer H. S., Stackebrandt E., Stock S. P., Klein M. G. Biodiversity and systematics of nematode–bacterium entomopathogens // Biological Control. 2006. Vol. 37. P. 32–49.
45. Styer K. L., Hopkins G. W., Bartra S. S., Plano G. V., Frothingham R., Aballay A. *Yersinia pestis* kills *Caenorhabditis elegans* by a biofilm-independent process that involves novel virulence factors // EMBO Reports. 2005. № 6. P. 992–997.





46. Бухарин О. В., Гинцбург А. Л., Романова Ю. М., Эль-Регистан Г. И. Механизм выживания бактерий. М. : Медицина, 2005. 367 с.
47. Акиев А. К. О микроочаговости чумы диких грызунов // Природная очаговость, микробиология и профилактика зоонозов : сб. ст. Саратов : Изд-во Коммунист, 1989. С. 53–60.
48. Удовиков А. И. Динамика эпизоотической активности природных очагов европейского юго-востока

России : прогноз на начало XXI столетия : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Саратов, 2010. 46 с.

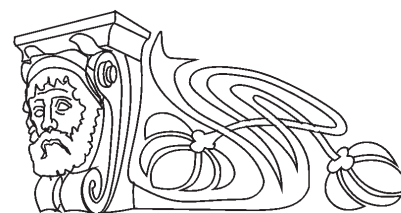
49. Попов Н. В., Аникин В. В., Удовиков А. Н. Оценка численности блох (Insecta, Siphonaptera) в период развития эпизоотий чумы в степных природных очагах сусликового типа Северного и Северо-Западного Прикаспия и Предкавказья // Тр. Рус. энтомол. о-ва. СПб., 2014. Т. 85 (2). С. 47–52.

УДК 582.675:581.143.6

## КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ПИОНА ТОНКОЛИСТНОГО (*PAEONIA TENUIFOLIA* L.)

Т. А. Крицкая, А. С. Кашин

Учебно-научный центр «Ботанический сад»  
Саратовского государственного университета  
E-mail: kriczkaya.tatyana@mail.ru, kashinas2@yandex.ru



В работе представлены литературные данные и результаты оригинальных исследований по проблеме клонального микроразмножения пиона тонколистного (*Paeonia tenuifolia* L.) – одного из наиболее декоративных и нуждающихся в охране видов региона. Рассмотрены основные этапы клонального микроразмножения пиона. В результате анализа обширного материала, касающегося рода *Paeonia* в целом, составлена эффективная схема клонального микроразмножения *P. tenuifolia*, включающая: эмбриокультуру на начальном этапе; микроразмножение на питательной среде WPM с удвоенной концентрацией  $\text{CaCl}_2$ , БАП (1.0 мг/л) и кинетин (0.5 мг/л); укоренение, достигаемое за счёт последовательной смены питательной среды с ИМК (1.0 мг/л) на среду без регуляторов роста при пониженной температуре; адаптацию к нестерильным условиям на субстрате, состоящем из вермикулита. Метод может быть использован для массового получения посадочного материала в целях восстановления численности популяций данного вида и зелёного строительства.

**Ключевые слова:** *Paeonia tenuifolia*, Paeoniaceae, клональное микроразмножение.

### Clonal Micropropagation of *Paeonia tenuifolia* L.

Т. А. Kriticakia, А. S. Kashin

*Paeonia tenuifolia* is one of the most attractive and needy of protection species among endangered plants of Saratov region. Modern methods of biotechnology, in some case plant clonal micropropagation, are increase efficiency of secured plant species propagation ex situ. There is a review the progress made in peony micropropagation and it is present short applicatory observations. Comprehensive references about *Paeonia* species in the whole were analyzed. An effective record of *P. tenuifolia* clonal micropropagation was composed. It is including follow steps: embryoculture on the first step; propagation on WPM media with double quantity of  $\text{CaCl}_2$  and supplemented BAP

(1.0 мг/л) and kinetin (0.5 мг/л); rooting by consecutive replacement of plantlets from media with IBA (1.0 мг/л) to hormone-free media at reduced temperature; acclimatization to non-sterile conditions on substrate, composed of vermiculite. A method may be used for mass obtaining of planting stock and laying out of parks.

**Key words:** *Paeonia tenuifolia*, Paeoniaceae, clonal micropropagation.

### Введение

Пион тонколистный (*Paeonia tenuifolia* L.) – травянистый многолетник до 50 см высотой с клубневидными утолщениями на корневищах. Листья дважды-триждытройчатые или тройчато-перистые, первичные сегменты их рассечены на многочисленные линейные доли (более 40 шт.) до 5 мм шириной. Венчик тёмно-красный или тёмно-пурпуровый, до 8 см диаметром. Плод – многолистовка из 1–5, чаще 3 листовок. Цветёт в апреле – начале мая. Размножение семенное и вегетативное [1].

*P. tenuifolia* указан со статусом и категорией «2б» – вид, сокращающийся в численности – в Красной книге Российской Федерации [2], и со статусом «2(V)» – уязвимый вид – в Красной книге Саратовской области [3]. Он также входит в список особо охраняемых растений Европы [4]. Редкость вида определяется разрушением степей в результате рекреационной нагрузки, массовым сбором населением на букеты и выкапыванием корневищ [2, 3].

Согласно литературным данным и гербарным образцам фондов SARAT и SARBG в Саратовской области *P. tenuifolia* отмечался в Ат-