

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

УДК 59.002 : 591.69-9 : 502.72

DOI:

Поступила в редакцию 12.02.2016

Принята в печать 06.09.2016

Для цитирования:

Власов Е.А., Малышева Н.С., Самойловская Н.А., Успенский А.В., Горохов В.В. Методические положения по организации изучения гельминтофауны млекопитающих на особо охраняемых природных территориях // Российский паразитологический журнал. – М., 2016. – Т.37. – Вып.3. – С.

For citation:

Vlasov E. A., Malysheva N.S., Samoylovskaya N. A., Uspenskiy A. V., Gorokhov V. V. Methodical recommendations about organization of mammals helminth fauna study in protected areas. Russian Journal of Parasitology, 2016, V.37, Iss.3, pp.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОЛОЖЕНИЯ ПО ОРГАНИЗАЦИИ ИЗУЧЕНИЯ ГЕЛЬМИНТОФАУНЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ НА ОСОБО ОХРАНЯЕМЫХ ПРИРОДНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ

Власов Е.А.¹, Малышева Н.С.¹, Самойловская Н.А.², Успенский А.В.², Горохов В.В.²

¹Курский государственный университет, научно-исследовательский институт паразитологии, 305000 г. Курск, ул. Радищева,33
email: kurskparazitolog@yandex.ru

² Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина
117218 г. Москва, ул. Б.Черемушкинская, д.28.
email: samoylovskaya@vniigis.ru, uspenskiy@vniigis.ru, gorohov@vniigis.ru

Реферат

В настоящих методических положениях предложены способы организации изучения гельминтофауны млекопитающих на особо охраняемых природных территориях. Приведены методы и результаты выполнения таких исследований на примере Центрально-Черноземного заповедника в Курской области. Методические положения предназначены для научных сотрудников заповедников, национальных парков, паразитологов, териологов и зоологов широкого профиля.

Ключевые слова: гельминтофауна, гельминты, млекопитающие, особо охраняемые природные территории, заповедники.

Введение

Гельминтологические исследования на особо охраняемых природных территориях (ООПТ), на территории бывшего СССР имеют богатую историю. Опыт таких исследований есть в более чем 30 заповедниках и национальных парках. Направления паразитологических исследований в заповедниках, сформулированные Дубининым [цит. по 2], а затем и Бибиковой [2] остаются актуальными и в настоящее время, обуславливая продолжение таких исследований. Ранее были выпущены обстоятельные методические указания [6]. В настоящих методических положениях рассматриваются гельминтологические исследования млекопитающих на территориях ООПТ, в которых собраны как полезные литературные сведения, касающиеся методик исследования млекопитающих, появившиеся в последние годы, так и собственный

опыт исследования млекопитающих на территории ООПТ. Кроме того, многие методы, использовавшиеся ранее в заповедниках, в настоящее время не могут быть применены. Так, например, запрещены регуляционные мероприятия численности копытных и хищников в соответствии Федеральным законом от 14 марта 1995 г. № 33-ФЗ «Об особо охраняемых природных территориях», не соответствующие нынешним целям и задачам заповедников.

В основе данных методических положений лежат исследования, проведенные в Центральном-Черноземном природном биосферном государственном заповеднике им. проф. В.В. Алехина в 2012-2015 гг. Заповедник состоит из шести участков, общая площадь которых 5026 га. Четыре участка заповедника находятся в юго-западной части Курской области: Стрелецкий, Казацкий, Зоринский и участок Пойма Псла на водоразделе рек Сейм и Псел. Два участка заповедника находятся в юго-восточной части Курской области: Баркаловка и Букревы Бармы на водоразделе рек Оскола и Кшени.

Материалом послужили гельминтологические исследования нескольких групп млекопитающих: мелких млекопитающих (насекомоядных, грызунов, рукокрылых), хищных и парнокопытных (кабан), проведенные в Центральном-Черноземном заповеднике.

Грызунов и насекомоядных изучали с помощью материала полученного во время учетов численности мелких млекопитающих в заповеднике. Плашки Геро были выставлены в ловушко-линии по 100 или 50 штук в течение 1-3 суток в весенний, летний и осенний период на всех 6 участках заповедника. Кроме того, использовали тушки мелких млекопитающих, отловленных жителями и сотрудниками заповедника в собственных домах в п. Заповедном, и обнаруженных мертвыми на территории п. Заповедный и остальной территории ЦЧЗ. Всего было отработано 4700 ловушко-суток, из них 4150 на Стрелецком участке и 550 на других участках. Исследовано 673 тушки мелких млекопитающих, из них тушки 14 видов грызунов (байбак, обыкновенная белка, темная мышовка, мышовка Штранда, обыкновенный слепыш, серый хомячок, европейская рыжая полевка, обыкновенная/восточноевропейская полевки, мышь-малютка, малая лесная, желтогорлая, полевая, домовая мыши), 5 видов насекомоядных (южный еж, малая белозубка, малая бурозубка, обыкновенная бурозубка, обыкновенная кутора), и 1 вида рукокрылых (поздний кожан).

Мелких млекопитающих исследовали методом полного гельминтологического вскрытия внутренних органов, компрессирования органов и тканей, при исследовании крупных грызунов использовали также метод промывания внутренних органов [1, 3]. Сбор гельминтов проводили при помощи бинокулярной лупы МБС-10. Методом компрессорной трихинеллоскопии мышцы диафрагмы и межреберные мышцы 92 особей грызунов 4 видов (европейская рыжая, обыкновенная/восточноевропейская полевки, малая лесная, полевая мыши), и 18 особей насекомоядных 3 видов (обыкновенная и малая бурозубки, южный еж) были исследованы на наличие личинок трихинелл.

При исследовании гельминтов млекопитающих отряда Парнокопытные была исследована 1 особь кабана, погибшая в охранной зоне Стрелецкого участка ЦЧЗ, методом полного гельминтологического вскрытия внутренних органов. Внутренние органы исследовали методом промывания. Также проводили трихинеллоскопию мышц ножек диафрагмы, межреберных мышц, мышц корня языка, жевательных мышц. Подкожную клетчатку и мышцы осматривали на наличие спарганумов.

Определение гельминтов млекопитающих проводили по соответствующим определителям, монографиям, определительным ключам в диссертациях и статьях.

Исследование гельминтов хищных проводили на территории четырех из шести участков ЦЧЗ: Стрелецкого, Казацкого, Зоринского и участка Пойма Псла копроовоскопическим методом. Материал собирали в течение февраля-марта 2012 года.

Собранные образцы этикетировали, помещали в пластиковые пакеты и замораживали. Принадлежность фекалий к конкретному виду определяли совместно с зоологом ЦЧЗ на месте сбора. Ввиду невозможности дифференциации фекалий от лесной куницы и каменной куницы были объединены в одну выборку «куньи», фекалии от лесного хоря, степного хоря, ласки, горносталя объединены в выборку «мелкие куньи». Исследование проводили по методу Калантарян (используя флотационный раствор нитрата натрия с относительной плотностью раствора 1,38). Для дифференциальной диагностики яиц проводили измерения яиц с помощью окуляр-микрометра, использовали рисунки и описания из атласов. Всего обработано 52 образца: 41 от лисицы, 1 от куньих, 6 от мелких куньих, 4 от американской норки.

Статистическая обработка данных была выполнена с помощью программы Quantitative Parasitology 3.0. Использовали общепринятые в паразитологии показатели: экстенсивность инвазии (ЭИ), интенсивность инвазии (ИИ), индекс обилия (ИО), а также индекс агрегированности D (index of discrepancy). В работе с микропрепаратами использовались микроскопы Биомед-6, Микромед-И.

В результате исследований у млекопитающих Центрально-Черноземного заповедника нами отмечен 61 вид гельминтов, относящийся к 2-м типам: Plathelminthes и Nematelminthes и 3 классам, из них 4 вида трематод, 25 видов цестод, 32 вида нематод а также две цестоды и группа яиц нематод, определенных до семейства, которые могут включать другие не зарегистрированные виды. Из обнаруженных видов гельминтов отмечены 12 видов, которые могут паразитировать у человека: *Dicrocoelium lanceatum* Stiles et Hassal, 1896, *Alaria alata* (Goeze, 1782), *Taenia martis* (Zeder, 1803), *Hydatigera taeniaformis* s.l. (Batsch, 1786), *Eucoleus aerophilus* (Creplin, 1839), *Trichinella nativa* Britov et Boev, 1972, *Metastrongylus apri* (Gmelin, 1780), *Plagiorchis elegans* (Rudolphi, 1802), *Syphacia obvelata* (Rudolphi, 1802), *Toxascaris leonina* (Linstow, 1902), *Toxocara* spp., *Uncinaria stenocephala* (Railliet, 1884). Также среди обнаруженных яиц цестод у обыкновенной лисицы на территории ЦЧЗ обнаружены яйца цестод семейства Taeniidae, которые могут включать виды патогенные для человека (*Taenia* spp., *Echinococcus* spp.).

Основываясь на изученном отечественном опыте работы паразитологов в заповедниках, а также собственном опыте гельминтологической работы в Центрально-Черноземном заповеднике, предлагаем следующие методические положения по организации работы гельминтологических исследований млекопитающих в заповедниках.

Так как наиболее представительными среди млекопитающих и сравнительно легкодоступными группами для изучения являются грызуны и насекомоядные, целесообразно систематически изучать эти группы. Материал можно получать в результате учетов численности мелких млекопитающих, проводящихся териологом, совместно териологом и паразитологом, или при отсутствии в заповеднике териолога – самим паразитологом. Методы учетов численности мелких млекопитающих подробно изложены, например в [4].

В связи с прекращением практики регулирования численности копытных и отстрела хищников в заповедниках сбор материала для исследования от парнокопытных и хищных проблематичен. В связи с чем, необходимо использовать альтернативные методы. В качестве таких альтернативных методов могут быть предложены как изучение павших от естественных причин или от рук браконьеров животных, так и такие методы как гельминтоовоскопия и гельминтолярвоскопия. Необходимо проинформировать руководство ООПТ, охранный и научный отделы о необходимости оперативного информирования сотрудника-паразитолога об обнаружении мертвых тушек млекопитающих, погибших от естественных причин или от рук браконьеров, на территории ООПТ или в ее охранной зоне. В таких случаях зачастую проблематична доставка материала в научную лабораторию. Следует быть

готовым осуществлять вскрытие погибших животных в полевых условиях, имея необходимое оборудование или использовать автотранспорт ООПТ для доставки туш в лабораторию заповедника.

Необходимо протоколировать информацию о месте и времени отлова мелких млекопитающих или обнаружения павших исследуемых животных, желательно с указанием географических координат, используя GPS- или ГЛОНАСС-навигатор.

Методы гельминтологических вскрытий, гельминтоовоскопии (копроовоскопии), и гельминтолярвоскопии наземных позвоночных подробно изложены в следующих публикациях [1, 3, 5, 6, 7, 8] многие из которых широко доступны в интернете [1, 7, 8], там же описаны методы изучения гельминтов отдельных групп: изготовление временных препаратов из нематод и тотальных препаратов из трематод и цестод (окраска кармином и гематоксилином). В вышеприведенных материалах также можно найти сведения о необходимом оборудовании для лабораторных и полевых исследований. В целом вскрытие животных можно разделить на пять фаз [1]:

1. Препарирование животного и сортировка органов в чашки Петри с физиологическим раствором.
2. Подготовка смывов и соскобов к просмотру.
3. Просмотр смывов и соскобов в чашках Петри или между двумя оконными стеклами, выборка гельминтов.
4. Фиксация гельминтов в 70% этиловом спирте.
5. Эtiquетирование сборов, запись в журнале вскрытий и укладка собранного материала для последующего хранения и транспортировки.

Рекомендуется также пробирки с зафиксированными гельминтами для лучшей сохранности материала для генетических исследований и предотвращения испарения спирта запечатывать в парафильм и хранить в холодильнике.

Хотя исследователь-паразитолог должен быть готов работать терпеливо и длительное время, проводя гельминтологические вскрытия, иногда материала больше чем можно обработать классическими методами в установленное время. В таких случаях внутренние органы можно сохранить для дальнейшего исследования несколькими способами [7]:

1. Желудочно-кишечный тракт и другие органы могут быть сохранены для исследования в отдельных пластиковых пакетах, желательно с как можно меньшим количеством воздуха, течение 1-2 дней в холодильнике.
2. Желудочно-кишечный тракт и другие органы могут быть сохранены для исследования в отдельных пластиковых пакетах, желательно с как можно меньшим количеством воздуха, в течение нескольких дней в морозильной камере.
3. Желудочно-кишечный тракт и другие органы могут быть сохранены для исследования в отдельных больших пробирках, заполненных 80% этиловым спиртом. Спирт должен быть заменен на следующий день. Спирт следует добавлять к содержимому как минимум в соотношении 4:1. По возможности эти пробирки следует также хранить в холодильнике. Этот способ наименее предпочтителен, и должен быть использован ввиду невозможности вышеописанных.

Также если в распоряжении имеется вместительная морозильная камера, возможно сохранение в замороженном состоянии целых тушек зверьков.

Литература

1. Аниканова В.С. Бугмырин С.В., Иешко Е.П. Методы сбора и изучения гельминтов мелких млекопитающих. – Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 2007. – 145 с.
2. Бибилова Л.А. Паразитологические исследования в заповедниках и их задачи // Паразитологические исследования в заповедниках. Сборник научных трудов. – М., 1983. – С. 4–16.

3. Ивашкин В.М., Контримавичус В.Н., Назарова Н.С. Методы сбора и изучения гельминтов наземных млекопитающих – М.: Наука, 1971. – 123 с.
4. Карасева Е.В. Телицына А.Ю., Жигальский О.А.. Методы изучения грызунов в полевых условиях – М.: Изд-во ЛКИ, 2008. – 416 с.
5. Лукиянов С.В., Чихляев И.В. Методы гельминтологических исследований // Методы полевых экологических исследований: учебн. пособие. – Саранск: из-во Мордов. ун-та, 2014. – С. 156–170.
6. Программа научных исследований по разделу Летописи природы «Болезни и паразиты» и общие рекомендации по профилактике и борьбе с заразными заболеваниями диких животных в государственных заповедниках. – М., 1990. – 44 с.
7. Protocols for field and laboratory rodent studies. Retrieved from CERoPath project / Под ред. Herbreteau V., Jittapalapong S., Rerkamnuaychoke W., Chaval Y., Cosson J.-F. and Morand S.. - 2011. Режим доступа: [http://www.ceropath.org/FichiersComplementaires/Herbreteau Rodents protocols 2011.pdf](http://www.ceropath.org/FichiersComplementaires/Herbreteau_Rodents_protocols_2011.pdf)
8. Henttonen H., Haukisalmi, V., Collection protocols for helminth parasites in rodents. - 2008. Режим доступа: [http://www.cen.ulaval.ca/arcticwolves/files/protocols/rodent helminth protocol v2.pdf](http://www.cen.ulaval.ca/arcticwolves/files/protocols/rodent_helminth_protocol_v2.pdf)

References

1. Anikanova V.S., Bugmyrin S.V., Ieshko E.P. *Metody sbora i izuchenija gel'mintov melkih mlekopitajushchih* [Methods of collection and study of small mammals helminths]. – Petrozavodsk, Karel'skij nauchnyj centr RAN Publ., 2007. – 145 p. (in Russian).
2. Bibikova L.A. *Parazitologicheskiye issledovaniya v zapovednikah i ih zadachi* [Parasitological studies in reserves and their tasks]. *Parazitologicheskiye issledovaniya v zapovednikah* [Parasitological studies in reserves] – Moscow, 1983. – P. 4–16 (in Russian).
3. Ivashkin V.M., Kontrimavichus V.N., Nazarova N.S. *Metody sbora i izucheniya gel'mintov nazemnyh mlekopitayushchih* [Methods for collection and study of terrestrial mammal helminths]. – Moscow, Nauka, 1971. – 123 p. (in Russian).
4. Karaseva E.V., Telitsina A.Yu., Zhigalsky O.A. *Metody izucheniya gryzunov v polevyh usloviyah* [The Methods of studying rodents in the Wild Nature]. – Moscow, Izdatel'stvo LKI, 2008. – 416 p. (in Russian).
5. Lukyanov S.V., Chikhlyayev I.V. *Metody gel'mintologicheskikh issledovaniy* [Methods of helminthological studies]. *Metody polevyh ekologicheskikh issledovaniy* [Methods of field ecological studies] – Saransk: Izdatel'stvo Mordovskogo universiteta Publ, 2014. – P. 156–170 (in Russian).
6. Programma nauchnyh issledovaniy po razdelu Letopisi prirody «Bolezni i parazity» i obshchie rekomendatsii po profilaktike i bor'be s zaraznymi zabolovaniyami dikih zhivotnyh v gosudarstvennyh zapovednikah [Program of scientific researches on chapter of Chronicle of nature «Diseases and parasites» and general recommendations about preventive measures and control of infectious diseases wild animals in state reserves] Moscow, 1990. – 44 p. (in Russian).
7. Herbreteau V., Jittapalapong S., Rerkamnuaychoke W., Chaval Y., Cosson J.-F. and Morand S. (Editors). Protocols for field and laboratory rodent studies. Retrieved from CERoPath project - 2011. [http://www.ceropath.org/FichiersComplementaires/Herbreteau Rodents protocols 2011.pdf](http://www.ceropath.org/FichiersComplementaires/Herbreteau_Rodents_protocols_2011.pdf)
8. Henttonen H., Haukisalmi, V., Collection protocols for helminth parasites in rodents. - 2008. [http://www.cen.ulaval.ca/arcticwolves/files/protocols/rodent helminth protocol v2.pdf](http://www.cen.ulaval.ca/arcticwolves/files/protocols/rodent_helminth_protocol_v2.pdf)

Russian Journal of Parasitology, 2016, V.37, Iss.3

DOI:

Received: 12.02.2016

Accepted: 06.09.2016

**METHODICAL RECOMMENDATIONS ABOUT ORGANIZATION OF
MAMMALS HELMINTH FAUNA STUDY IN PROTECTED AREAS**

Vlasov E. A.¹, Malysheva N.S.¹, Samoylovskaya N. A.², Uspenskiy A. V.², Gorokhov V. V.²

¹Kursk State University, Scientific Research Institute of Parasitology

305000 Kursk, Radischeva str., 33 email: kurskparazitolog@yandex.ru

²All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin, 117218 Moscow Bolshaya Cheryomushkinskaya str., 28 email: samoylovskaya@vniigis.ru, uspenskiy@vniigis.ru, gorohov@vniigis.ru

Abstract

In this article is shortly described methods of study of helminth fauna of mammals in protected areas. Methods and results that kind of study are depicted by the example of researches which were carried out in the Central-Chernozem state nature reserve in Kursk oblast. These methodical recommendations intended for researchers of reserves, national parks, parasitologists, mammalogists and broad zoologists.

Keywords: helminths, helminth fauna, mammals, protected areas, methods.

© 2016 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI)http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CA-BI.org/Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)