

СОДЕРЖАНИЕ

Том 54, № 5, 2020

Микроспоридии и их ближайшие родственники: современные представления об эволюции уникальной группы экстремальных паразитов	355
<i>Тимофеев С. А., Сендерский И. В., Журавлев В. С., Долгих В. В.</i>	
Защитные реакции легочных моллюсков при паразитарной инвазии	371
<i>Атаев Г. Л., Прохорова Е. Е., Токмакова А. С.</i>	
Ультроструктурные особенности кожно-мускульного мешка гельминта <i>Trichostrongylus tenuis</i> (Mehlis, 1846) (Nematoda: Trichostrongylidae)	402
<i>Сеидбейли М. И., Рзаев Ф. Г., Гасымов Э. К.</i>	
Nematicidal activity of nematode-symbiotic bacteria <i>Xenorhabdus bovienii</i> and <i>X. nematophila</i> against root-knot nematode <i>Meloidogyne incognita</i>	413
<i>Danilov L. G., Kaplin V. G.</i>	
Паразиты алтайского османа <i>Oreoleuciscus</i> sp. (Cypriniformes, Cyprinidae) в озере Торе-Холь (Убсунурская котловина, Тыва)	423
<i>Дугаров Ж. Н., Бурдуковская Т. Г., Хамнуева Т. Р., Балданова Д. Р., Куксин А. Н.</i>	
Блохи (Siphonaptera) млекопитающих и птиц на Восточном Кавказе	430
<i>Котти Б. К., Артюшина Ю. С.</i>	

CONTENTS

Vol. 54, No. 5, 2020

Microsporidia and their closest relatives: current ideas about the evolution of a unique group of extreme parasites <i>Timofeev S. A., Senderskiy I. V., Zhuravlev V. S., Dolgikh V. V.</i>	355
Defense reactions of pulmonate molluscs during parasitic invasion <i>Ataev G. L., Prokhorova E. E., Tokmakova A. S.</i>	371
Ultrastructural features of the body wall of the helminth <i>Trichostrongylus tenuis</i> (Mehlis, 1846) (Nematoda: Trichostrongylidae) <i>Seyidbeyli M. I., Rzaev F. H., Gasimov E. K.</i>	402
Nematicidal activity of nematode-symbiotic bacteria <i>Xenorhabdus bovienii</i> and <i>X. nematophila</i> against root-knot nematode <i>Meloidogyne incognita</i> <i>Danilov L. G., Kaplin V. G.</i>	413
Parasites of the Altai Osman <i>Oreoleuciscus</i> sp. (Cypriniformes, Cyprinidae) in Tore-Khol lake (Ubsunur hollow, Tuva) <i>Dugarov Z. N., Burdukovskaya T. G., Khamnueva T. R., Baldanova D. R., Kuksin A. N.</i>	423
Fleas (Siphonaptera) of mammals and birds in the Eastern Caucasus <i>Kotti B. K., Artyushina J. S.</i>	430

УДК 57.065:577.29

МИКРОСПОРИДИИ И ИХ БЛИЖАЙШИЕ РОДСТВЕННИКИ: СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭВОЛЮЦИИ УНИКАЛЬНОЙ ГРУППЫ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ПАЗАРИТОВ

© 2020 г. С. А. Тимофеев*, И. В. Сендерский,
В. С. Журавлев, В. В. Долгих

Всероссийский институт защиты растений,
ш. Подбельского 3, Санкт-Петербург, Пушкин, 196608 Россия
*e-mail: ts-bio@ya.ru

Поступила в редакцию 21.07.2020 г.

После доработки 02.09.2020 г.

Принята к печати 07.09.2020 г.

В обзоре рассмотрены современные представления об эволюции и филогении облигатных внутриклеточных эукариотических паразитов – микроспоридий. В процессе адаптации к внутриклеточному паразитизму геном и функциональный аппарат данных организмов претерпел значительную редукцию и модификацию. Систематическое положение данной группы долгое время оставалось неясным, и было доподлинно неизвестно, как происходила эволюция микроспоридий, когда и каким образом возникли их уникальные адаптации к паразитическому образу жизни. Настоящий прорыв в изучении эволюции микроспоридий был осуществлен только в последние несколько лет. Были обнаружены и описаны группы, занимающие наиболее близкое к микроспоридиям положение на древе жизни: Cryptomycota (Rozellida) и Aphelida. Секвенирование геномов представителей данных групп, которые также относятся к внутриклеточным паразитам, и первые геномные данные о представителях базальных ветвей микроспоридий, полученные в 2013–2020 гг., позволили по-новому взглянуть на эволюцию микроспоридий и их ближайших родственников, обнаружить промежуточные формы на пути адаптации к внутриклеточному паразитизму.

Ключевые слова: Microsporidia, Aphelida, Cryptomycota, внутриклеточные паразиты, эволюция

DOI: 10.31857/S1234567806050016

Микроспоридии – это облигатные внутриклеточные эукариотические паразиты, освоившие чрезвычайно широкий круг хозяев, от протистов до млекопитающих (Токкарев и др., 2016; Stentiford et al., 2016). Пятнадцать видов микроспоридий способны заражать человека, вызывая микроспоридиозы – повсеместно распространенные заболевания, обычно проявляющиеся у пациентов с ослабленным иммунитетом (Тимофеев, 2015). Кроме того, микроспоридии наносят огромный ущерб таким отраслям сельского хозяйства как пчеловодство и шелководство, вызывая тяжелые болезни у медоносной пчелы и тутового шелкопряда (Stentiford et al., 2016; Martín-Hernández

et al., 2018). Все активные стадии жизненного цикла микроспоридий функционируют только внутри клеток их хозяев, за пределами которых эти паразиты могут выживать только в виде толстостенных спор с уникальной морфологией. В процессе адаптации к внутриклеточному паразитизму геном и набор характерных для эукариот клеточных систем и органелл данных организмов был значительно редуцирован и модифицирован (Cuomo et al., 2012). Микроспоридии утратили множество метаболических путей, в том числе способность к синтезу многих аминокислот и нуклеотидов, в результате чего они в значительной степени стали зависеть от субстратов, заимствуемых у клеток хозяина (Dean et al., 2016). Именно у микроспоридий, впервые среди эукариот, были обнаружены уникальные переносчики АТФ, способные напрямую транспортировать это соединение из цитоплазмы инфицированной клетки. Эта адаптация позволяет данным паразитам не использовать собственную систему энергетического метаболизма в ходе внутриклеточного развития, а полностью полагаться на энергетические ресурсы хозяина (Dolgikh et al., 2011; Tsaousis et al., 2008; Alexander et al., 2016).

Систематическое положение микроспоридий долгое время оставалось неясным и было доподлинно неизвестно, как происходила их эволюция, когда и каким образом они приобрели свои уникальные адаптации к паразитическому образу жизни. Благодаря развитию методов молекулярной филогении, в начале нынешнего столетия появились первые данные, свидетельствующие о родстве микроспоридий с грибами (Hirt et al., 1999; Keeling et al., 2000). Однако эти данные не позволяли ответить на вопрос, каким образом происходила эволюция микроспоридий, практически не имеющих специфических черт, общих с другими группами грибов. Настоящий прорыв в области изучения эволюции микроспоридий был осуществлен только за последние несколько лет. В начале последнего десятилетия были опубликованы данные об обнаружении группы под названием Rozellida (Lara et al., 2010) или Cryptomycota (Jones et al., 2011), которая рассматривалась в качестве базального таксона среди грибов. Помимо многочисленных сиквенсов неидентифицированных объектов из образцов окружающей среды, в пределах данной группы был известен единственный описанный род *Rozella* – паразит грибов или водорослей, ранее относимый к хитридиомицетам. Для представителей данного рода характерны фаготрофное питание и расселение с помощью зооспор. Параллельно с этим публиковались работы, в которых в качестве базальной группы грибов рассматривались микроспоридии (Capella-Gutiérrez et al., 2012). В 2013 г. было продемонстрировано близкое родство микроспоридий и Cryptomycota. При этом анализ расшифрованного в указанной работе генома *Rozella allomycis* показал, что для данного вида характерна сильная степень редукции и модификации функционального аппарата, выраженная в чуть меньшей степени, чем у микроспоридий (James et al., 2013). В это же время было показано, что к микроспоридиям и криптомикотам близка еще одна группа грибов: Aphelida (Karpov et al., 2013; Karpov et al., 2014). Представители данного таксона представляют собой фаготрофных зооспоровых паразитоидов водорослей, морфологически схожих с *Rozella* sp.

Вскоре после этого был обнаружен новый вид паразитов, относящийся, по данным молекулярной филогении, к Cryptomycota: *Paramicrosporidium* sp., обладающий сходной с микроспоридиями морфологией и развивающийся внутри ядер амёб (Corsaro et al., 2014). Кроме того, был переописан другой вид внутриядерных паразитов амёб – *Nucleophaga amoebae* и было показано, что этот вид родственен *Paramicrosporidium* и также относится к розеллидам (Corsaro et al., 2014a). В это же время были опубликованы описание и данные расшифровки генома уникального паразита дафний

Mitosporidium daphniae, морфологически схожего с микроспоридиями и по степени редукции и специализации генома к паразитическому образу жизни занимающего промежуточное положение между данной группой и *R. allomycis* (Haag et al., 2014). В последующие годы были расшифрованы геномы криптомикота *P. saccamoebae* (Quandt et al., 2017), афелиды *Paraphelidium tribonemae* (Torruella et al., 2018), а также двух представителей ранее не изученной с точки зрения молекулярной филогении группы микроспоридий – мечниковеллид, которые заняли базальное положение в системе данных паразитов (Mikhailov et al., 2017; Galindo et al., 2018). Однако год спустя были опубликованы результаты молекулярно-филогенетического анализа микроспоридии *Chytridiopsis typographi*, и клада Chytridiopsida сменила мечниковеллид в качестве базальных микроспоридий (Corsaro et al., 2019). В 2020 г. был описан новый вид розеллид *Morellospora saccamoebae*, являющийся паразитом амёб и имеющий схожую с микроспоридиями морфологию, как и представители родов *Nucleophaga* и *Paramicrosporidium* (Corsaro et al., 2020). Однако, в отличие от последних, *M. saccamoebae* развивался не в ядрах амёб, а в их цитоплазме.

Таким образом, обнаружение ближайших родственников микроспоридий, расшифровка их геномов вкупе с геномными данными о корневых группах самих микроспоридий позволили по-новому взглянуть на эволюцию данной группы. В настоящем обзоре будут рассмотрены особенности функциональной морфологии, жизненных циклов, геномов и других клеточных систем микроспоридий, розеллид и афелид и обсуждены вероятные эволюционные пути развития данных систем.

СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОМ ПОЛОЖЕНИИ ТАКСОНОВ APHELIDA, CRYPTOMYCOTA И MICROSPORIDIA

Афелиды (Aphelida Karpov et al., 2014 или Aphelidiomycota Tedersoo et al., 2018) – небольшая группа внутриклеточных паразитоидов водорослей, первый представитель которой, *Aphelidium* sp., был описан еще в 1885 г. (Karpov et al., 2014). На сегодняшний день в составе группы описано около 20 видов в составе 4 родов (Seto et al., 2020). С момента первоописания группа рассматривалась как таксон различного ранга в таких группах как “Monadinea”, “Rhizopoda”, “Mezomycetozoea”, “Paramycia” (Gromov, 2000). В 2014 г. на основании массива молекулярно-филогенетических данных группе был присвоен ранг типа в составе надтипа Opisthosporidia, который включает также микроспоридий и розеллид и является сестринским таксоном по отношению к грибам (Karpov et al., 2014). Однако расшифровка первого транскриптома афелиды *Paraphelidium tribonemae* и применение методик мультигенной филогении (Torruella et al., 2018) показали, что Opisthosporidia представляет собой парафилетическую группу и что афелиды занимают более близкое к грибам положение, чем другие таксоны данной группы (рис. 1).

Таксономическое положение розеллид (Rozellida Lara et al., 2010), или криптомикот (Cryptomycota Jones, Richards, 2011), также описанных под названиями Rozellomycota Corsaro et al., 2014b и Rozellosporidia Karpov et al., 2017, на сегодняшний день остается предметом дискуссий. Согласно ряду исследований, этот таксон включает в себя как 27 видов – паразитов грибов, оомицетов и водорослей в составе рода *Rozella*, морфологически схожих с афелидами и зооспоровыми грибами, так и схожих с микроспоридиями паразитов, относящихся к родам *Nucleophaga*, *Paramicrosporidium*, *Morellospora* и *Mitosporidium* (Corsaro et al., 2020; Torruella et al., 2018). По мнению других

исследователей, представителей группы, за исключением *Rozella*, следует считать примитивными микроспоридиями (Bass et al., 2018; Adl et al., 2019). На предложенной нами консенсусной кладограмме мы отразили это противоречие в виде перекрывающихся границ между таксонами Rozellida и Microsporidia (рис. 1). По нашему мнению, для однозначного разграничения розеллид и микроспоридий на сегодняшний день накоплено недостаточно данных. При этом, несмотря на различную трактовку границ между этими таксонами, характер филогенетических взаимоотношений между описанными видами розеллид и микроспоридий не является предметом дискуссий в последних опубликованных работах. Таким образом, вопрос о систематическом положении *Nucleophaga*, *Paramicrosporidium* и др. является формальностью и не влияет на наши представления об эволюции розеллид и микроспоридий. Для унификации терминологии в рамках данной работы мы будем обозначать представителей этих морфологически сходных с микроспоридиями видов как «высшие розеллиды».

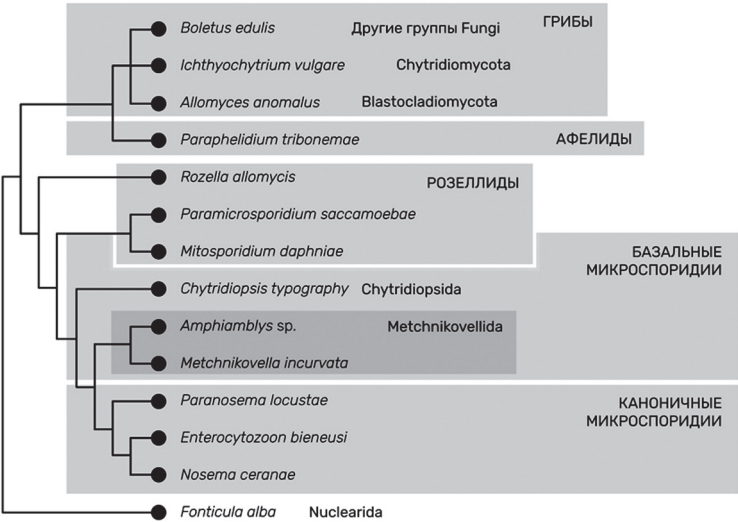


Рисунок 1. Консенсусная кладограмма, отражающая эволюционные взаимоотношения микроспоридий, розеллид и афелид согласно Bass et al., 2018; Galindo et al., 2018; Torruella et al., 2018; Corsaro et al., 2019. Пересечение границ таксонов розеллид и базальных микроспоридий указывает на дискуссионное положение *P. saccamoebae* и *M. daphnia*, которых иногда рассматривают как примитивных микроспоридий (Bass et al., 2018).

Figure 1. Consensus cladogram reflecting the evolutionary relationships of microsporidia, rozellids and aphelids according to Bass et al., 2018; Galindo et al., 2018; Torruella et al., 2018; Corsaro et al., 2019.

The intersection of the boundaries of the rozellid taxa and basal microsporidia indicates the controversial position of *P. saccamoebae* and *M. daphnia*, which are sometimes considered as primitive microsporidia (Bass et al., 2018).

Рассматривая систематическое положение микроспоридий, мы разделили данный таксон на две условные группы, представители которых существенно отличаются друг от друга по целому ряду морфологических и генетических признаков (Corsaro et al., 2020; Galindo et al., 2018). Первая группа – «Базальные микроспоридии» – включает в себя две клады, занимающие положение в корне филогенетического дерева:

специализированных гиперпаразитов грегариин Metchnikovellida, а также Chytridiopsida, заражающих главным образом наземных членистоногих (насекомых, клещей и многоножек) и кольчатых червей (Corsaro et al., 2019). Кроме того, как уже было сказано, ряд исследователей относит к базальным микроспоридиям высших розеллид (Bass et al., 2018; Adl et al., 2019). Вторая группа – «Каноничные микроспоридии» – наиболее хорошо изученная группа, включающая в себя большую часть микроспоридий (рис.1).

Помимо противоречий в установке границ между описываемыми таксонами, предметом дискуссий до сих пор является характер их взаимоотношений с группой Fungi. В данной работе мы придерживаемся гипотезы, согласно которой Aphelida, Cryptomycota и Microsporidia следует рассматривать в качестве сестринских таксонов для грибов (Bass et al., 2018; Karpov et al., 2017; Galindo et al., 2018), т.к. данные группы в совокупности практически не имеют общих признаков с другими группами грибов. При этом в систематических обзорах последних лет, посвященных классификации эукариот, описываемые таксоны обычно включаются в состав группы Fungi (Adl et al., 2019; Tedersoo et al., 2018), хотя в этом случае, как утверждают сами авторы, у грибов не остается однозначных морфологических, субклеточных или биохимических синапоморфий (Adl et al., 2019).

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЭВОЛЮЦИЯ РАЗЛИЧНЫХ СИСТЕМ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ МИКРОСПОРИДИЙ И ИХ БЛИЖАЙШИХ РОДСТВЕННИКОВ

Функциональная морфология и образ жизни

Стадией дисперсии у афелид являются споры, представленные в виде одножгутиковых зооспор или амебоидных клеток с развитым или редуцированным жгутиком. При контакте с клеткой хозяина спора прикрепляется к ней, инцистируется и формирует трубку, которая проникает («прорастает») через клеточную стенку водоросли. Через эту трубку амебоидный зародыш попадает в пространство между клеточной стенкой и плазмалеммой клетки хозяина и начинает поглощать ее содержимое путем фагоцитоза. На следующей стадии развития амебоидный трофонт превращается в многоядерный плазмодий, который полностью замещает содержимое клетки хозяина. За счет деления плазмодия образуются новые расселительные стадии, которые покидают клетку хозяина и замыкают цикл развития паразитоида. Для некоторых видов афелид показано образование внутри клеток хозяев т.н. «покоящихся спор», которые так же как и инфекционная циста имеют клеточную стенку из хитина (Karpov et al., 2014; Letcher, Powell, 2019; Torruella et al., 2018). Зооспоры афелид, как и амебоидные трофонты, обладают полным набором органелл эукариотической клетки – полноценными митохондриями, эндоплазматическим ретикулумом, аппаратом Гольджи и т.д.

Несмотря на то, что жизненный цикл криптомикотов *Rozella* sp. в первом приближении аналогичен таковому у афелид, за исключением отсутствия у данного рода амебоидных расселительных стадий (Letcher, Powell, 2018), по всей видимости, для представителей *Rozella* характерно более тонкое взаимодействие с клеткой хозяина, чем для афелид. Существенные различия между представителями этих двух групп были обнаружены при сравнительном анализе тонкого строения их клеток и особенностей взаимоотношений с клеткой хозяина на ультраструктурном уровне. Как и афелиды, криптомикоты проникают в пространство между клеточной стенкой и цитоплазматической мембраной клетки хозяина (Powell et al., 2017). Афелиды после этого

поглощают содержимое клетки хозяина за счет фагоцитоза «извне», не проникая через ее плазмалемму внутрь цитоплазмы. Представители рода *Rozella*, напротив, проникают внутрь хозяйинной клетки за счет инвагинации ее цитоплазматической мембраны и затем поглощают ее содержимое «изнутри» (Powell, Letcher, 2019) (рис.2). При этом если на раннем этапе заражения (около 24 ч после инфекции) паразит развивается в вакуоли и окружен, помимо собственной плазмалеммы, одной мембраной, являющейся производным плазмалеммы хозяина, то на более позднем этапе (около 96 ч) развивающийся плазмодиум *Rozella* оказывается заключенным уже в двухмембранную вакуоль. По мнению авторов последних исследований, описывавших инфекционный процесс у *R. allomyces* (Powell et al., 2017; Powell, Letcher, 2019), первичная вакуоль со временем разрушается, и образующаяся ей на смену двухмембранная структура уже не является производным цитоплазматической мембраны хозяина. Эта вакуоль может иметь разное происхождение и разную структуру у разных видов розеллид. У *R. allomyces* и *R. rhizoclosmatii* она состоит образований, обозначенных авторами как “host cisterna”, и имеет вид сплошной двойной мембраны, плотно прилегающей к плазмалемме паразита. В тоже время плазмодиум *R. polyphagi* окружен разбросанными участками гладкого и шероховатого эндоплазматического ретикулума хозяина, не образующими сплошного слоя (Powell, Letcher, 2019).

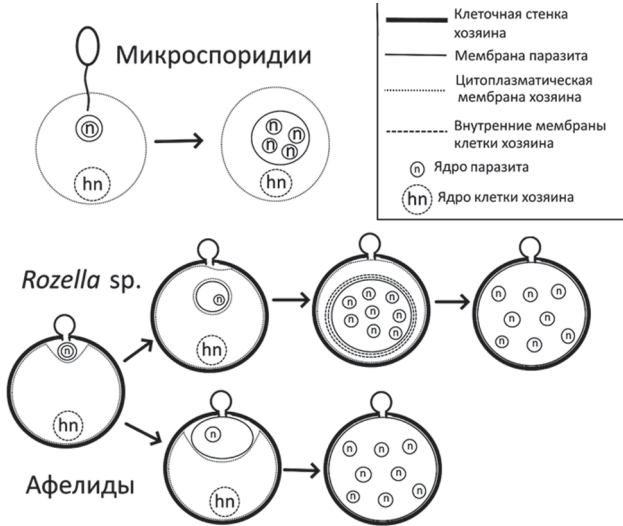


Рисунок 2. Упрощенная схема фрагмента жизненного цикла от инфицирования клетки хозяина до развития многоядерного плазмодия у микроспоридий, *Rozella* sp. и афелид, иллюстрирующая различное положение данных организмов в клетках хозяев.

Figure 2. Simplified diagram of a life cycle fragment from infection of the host cell to the development of multinucleated plasmodium in microsporidia, *Rozella* sp. and aphilids, showing different localization of the organism in infected cells.

Некоторые виды *Rozella*, паразитирующие в гифах хитридиевых грибов, лишены классического клеточного строения, способны индуцировать в них образование септ, благодаря чему в организме хозяина образуется обособленный компартмент, содержащий развивающегося паразита. По мнению авторов (Powell, Letcher, 2019), это

может быть необходимо паразиту для создания тургора внутри зараженной клетки, способствующего выходу зооспор из хозяина. Кроме того, для представителей *Rozella* показаны концентрация митохондрий хозяина вокруг развивающегося паразита и частичная деградация митохондрий самого патогена при внутриклеточном развитии (Powell et al., 2017). Данную особенность можно рассматривать в качестве аргумента в пользу теории о способности видов *Rozella* напрямую поглощать из клетки хозяина АТФ для поддержания собственного развития и размножения, о чем подробнее будет упомянуто в разделе, посвященном метаболизму. Кроме того, в клетках *Rozella* sp., как и у микроспоридий, не были обнаружены характерные для афелид диктиосомы аппарата Гольджи (Powell et al., 2017).

В отличие от *Rozella* spp. и афелид, споры микроспоридий не способны к самостоятельному передвижению и представляют собой упакованные в систему оболочек зародыши со сложно организованным аппаратом экстрюзии, необходимым для внедрения паразита внутрь инфицируемой клетки. У каноничных микроспоридий этот аппарат обычно состоит из уникальных для данной группы органелл: длинной нитевидной полярной трубки, уложенной спирально, полярного диска и задней вакуоли (Исси, Воронин, 2007). Характерный для большинства видов микроспоридий жизненный цикл включает в себя экстрюзию полярной трубки из споры паразита, проникновение зародыша в клетку хозяина, рост и размножение патогена, которое чаще всего происходит за счет множественного деления – мерогонии. Затем микроспоридии приступают к спорогонии, в результате чего образуются спорогональные плазмодии, дающие начало споробlastам, в которых происходит формирование спор. Обычно на этом этапе происходит разрушение зараженной клетки хозяина; вышедшие таким образом споры заражают другие клетки того же организма или выводятся наружу для заражения других особей. Заражение многоклеточных животных обычно происходит при попадании спор паразитов в пищеварительный тракт хозяина (Исси, Воронин, 2007). У некоторых микроспоридий жизненный цикл может значительно усложняться, включать в себя мейоз и половой процесс, смену нескольких хозяев, в которых могут образовываться споры разных типов (Симакова, 2014). Клетки микроспоридий лишены жгутиков и их производных, цистерн аппарата Гольджи. Их митохондрии редуцированы до крохотных двухмембранных органелл – митосом, не обладающих собственным геномом (Williams et al., 2002). Микроспоридии также утратили способность к фагоцитозу и везикулярному транспорту.

Споры базальных групп микроспоридий – Metchnikovellida и Chytridiopsida, а также высших розеллид родов *Nucleophaga*, *Paramicrosporidium*, *Morellospora* и *Mitosporidium* внешне напоминают каноничных микроспоридий, за исключением того, что в спорах данных организмов отсутствует развитый аппарат экстрюзии. Для них характерно наличие короткой, не образующей витков полярной трубки; в спорах различных видов могут быть также обнаружены отдельные структуры, напоминающие слабо развитые аналоги других элементов аппарата экстрюзии каноничных микроспоридий (Corsaro et al., 2016; Corsaro et al., 2019; Mikhailov et al., 2017). Важным отличием розеллид, обладающих схожим с микроспоридиями строением споры, от базальных микроспоридий также является наличие функциональных митохондрий, обладающих собственным геномом (Quandt et al., 2017). Кроме того, для данных организмов, по-видимому, характерно множественное деление по типу мерогонии, в то время как у базальных микроспоридий – Metchnikovellida и Chytridiopsida – такой вид деления не был обнаружен (Corsaro et al., 2019; Galindo et al., 2018).

Как мы уже отмечали во введении к настоящей работе, многочисленные расшифровки геномов канонических микроспоридий показали их крайнюю редукцию и модификацию, что соотносится с чрезвычайно высокой специализацией этих организмов на морфологическом уровне (Corradi, 2015; Cuomo et al., 2012). Анализ опубликованных в последние годы данных расшифровки геномов розеллид и базальных микроспоридий позволяет проследить, как формировалась данная особенность в эволюции и сопоставить наблюдаемые морфофункциональные и молекулярные различия (James et al., 2013; Galindo et al., 2018; Quandt et al., 2017). Наиболее глубокий анализ геномов розеллид и базальных микроспоридий был произведен авторами расшифровки транскриптома афелиды *Paraphelidium tribonemae*, которые, по нашему мнению, смогли выдвинуть на основании собственных и литературных данных наиболее достоверную гипотезу о ранних этапах эволюции грибов, афелид, розеллид и микроспоридий. Анализ транскриптома *P. tribonemae* продемонстрировал, что данные организмы практически не претерпели редукции и специализации генома и, соответственно, различных функциональных систем, что обычно свойственно внутриклеточным паразитам (Torruella et al., 2018). По генетическому составу они оказались ближе к свободноживущим зооспоровым грибам, чем к розеллидам и микроспоридиям.

Исходя из данных о сестринском положении грибов и афелид, авторы предположили, что последние наиболее близки к гипотетическому предку Opisthosporidia и грибов и сохраняют большую часть черт, характерных для предковой формы. По мнению авторов, такой организм представлял собой свободноживущего хищника, который, возможно, как и афелиды, был приспособлен к эндобиотическому фаготрофному питанию и имел амебофлагеллятную расселительную и покрытую хитином покоящуюся стадию. Эволюционное развитие гипотетического предка грибов, розеллид и микроспоридий в сторону общего предка различных групп грибов заключалось в утрате способности к фагоцитозу и переходе к осмотрофному питанию через клеточную стенку из хитина, которая теперь окружала и вегетативную стадию, в то время как развитие в сторону общего предка розеллид и микроспоридий подразумевало адаптацию к внутриклеточному паразитизму, сопровождающуюся прогрессирующей редукцией и специализацией геномов и различных клеточных систем данных организмов, в том числе утратой подвижных расселительных стадий, способности к фагоцитозу, функциональных митохондрий и т.д. (Torruella et al., 2018).

В данную концепцию логично вписываются описанные выше принципиальные различия тонкого строения и взаимоотношений с клеткой хозяина между афелидами и представителями рода *Rozella*, наблюдаемые при внешнем сходстве жизненных циклов данных организмов. Афелиды, поглощающие клетки своих хозяев «извне» и не вступающие с ними в более глубокие взаимоотношения, являются не настоящими паразитами, а паразитоидами, наиболее близкими по образу жизни к свободноживущему хищному предку, в то время как виды *Rozella*, развивающиеся внутри цитоплазмы зараженных клеток, уже являются полноценными паразитами. И действительно, выполненное ранее секвенирование генома *R. allomycis* показало, что для данного организма характерны признаки редукции и специализации генома и функционального аппарата, выраженные чуть в меньшей степени, чем у микроспоридий и, вероятно, унаследованные от общего эндопаразитарного предка (James et al., 2013).

Сравнительный анализ геномов розеллид и микроспоридий позволяет также проследить утрату последними способности к фагоцитозу и везикулярному транспорту. В геноме у способного к фагоцитозу вида *R. allomycis* есть все необходимые гены

для этого процесса, в том числе белки TOR (белки-мишени для рапамицина) и клатрин (Wadi, Reinke, 2020). В геномах подобных микроспоридиям розеллид *M. daphnia* и *P. saccamoebae* также присутствуют эти гены, хотя способность к фагоцитозу или ее отсутствие не была экспериментально продемонстрирована для данных организмов (Naag et al., 2014; Quandt et al., 2017). У базальных микроспоридий – мечниковеллид, не способных к фагоцитозу, отсутствуют белки TOR, но все еще имеется клатрин, в то время как у всех каноничных микроспоридий все указанные белки отсутствуют (Wadi, Reinke, 2020).

На сегодняшний день доподлинно неизвестно, каким образом в эволюции сформировалось уникальное строение спор микроспоридий. Поскольку жизненный цикл и строение спор и цист афелид и *Rozella* spp. адаптированы к инфицированию организмов, обладающих клеточной стенкой, в первую очередь грибов и водорослей, логично предположить, что формирование характерной для микроспоридий морфологии спор и способа инфицирования связано с освоением нового круга хозяев, клетки которых не обладают выраженной клеточной стенкой. И действительно, микроспоридии поражают практически все группы животных, несколько групп протистов (грегарин, инфузорий и парамиксид), но никогда не встречаются у грибов, высших растений и водорослей (Stentiford et al., 2016, 2017; Yakovleva et al., 2020). Также на сегодняшний день невозможно достоверно определить, какая стадия жизненного цикла *Rozella* spp. может соответствовать спорам микроспоридий. Наиболее очевидным кандидатом является циста, формирующаяся на поверхности хозяйинной клетки и прорастающая внутрь, т.к. данная стадия, как и спора микроспоридий, окружена хитином, а трубку прорастания можно гипотетически считать аналогом полярной трубки микроспоридий. Однако это предположение пока не было подкреплено экспериментальными данными. Также пока неизвестно, является ли структура, напоминающая укороченную полярную трубку у высших розеллид и базальных микроспоридий, аналогом полярной трубки канонических микроспоридий. Неизвестно также, каким именно образом происходит экструзия спор базальных микроспоридий и розеллид и внедрение зародышей этих видов в клетки их хозяев.

Размер и структура генома

Геном микроспоридии *Encephalitozoon intestinalis* имеет размер всего 2.3 млн пар нуклеотидов и кодирует около 1900 белков, что является наименьшим показателем среди эукариот (Corradi et al., 2010). Геном данного организма также демонстрирует беспрецедентный уровень компактизации: белок-кодирующие последовательности составляют более 90 % генома, а промежутки между генами – в среднем 115 пар оснований. Сопоставив данные о размере и структуре геномов разных видов микроспоридий и их ближайших родственников, можно отметить, что тенденция к подобной компактизации является одним из основополагающих трендов их эволюции (табл. 1). К примеру, для генома *R. allomycis* размером около 12 млн пар нуклеотидов, в котором закодировано более 6300 белков, также характерны признаки редукции и компактизации, однако менее выраженные, чем у микроспоридий (James et al., 2013). Геномы высших розеллид *P. saccamoebae* и *M. daphniae*, находящихся ближе к микроспоридиям на филогенетическом древе, уже значительно более редуцированы, как и у базальных микроспоридий (табл. 1), а наивысшей степени компактизации достигают только каноничные микроспоридии. Хотя для афелид пока отсутствуют геномные данные, анализ транскриптома *P. tribonemae* выявил у данного организма более 10 тыс. потенциальных белок-кодирующих последовательностей (Torruella et al., 2018).

Таблица 1. Размеры геномов некоторых видов розеллид и микроспоридий
Table 1. Genome sizes of some species of Rozellida and Microsporidia

Вид	Размер генома (млн пар нуклеотидов)	Количество белок-кодирующих генов
<i>Rozella allomycis</i>	11.9	6350
<i>Paramicrosporidium saccamoebae</i>	7.3	3750
<i>Mitosporidium daphniae</i>	5.6	3330
<i>Amphiamblys</i> sp.	5.6	3642
<i>Metchnikovella incurvata</i>	5.4	2803
<i>Nematocida parisii</i>	4.1	2661
<i>Edhazardia aedis</i> *	51.3	4190
<i>Enterocytozoon bieneusi</i>	3.9	3632
<i>Ordospora colligata</i>	2.3	1820
<i>Encephalitozoon intestinalis</i>	2.2	1938
<i>Nosema bombycis</i> **	15.7	4468

П р и м е ч а н и я . * Характеризуется сложным жизненным циклом, специфически адаптированным к вертикальной передаче (см. текст).

** Характеризуется высокой эффективностью вертикальной передачи (см. текст).

Однако в наблюдаемую тенденцию компактизации генома видов, лежащих в основании филогенетического древа микроспоридий и родственных им групп, не вписываются многочисленные обнаружения канонических микроспоридий с размером генома, многократно превышающим средние значения для группы. Так, у микроспоридий *Edhazardia aedis* размер генома составляет более 51 млн пар нуклеотидов, а у *Nosema bombycis*, принадлежащей к группе эволюционно продвинутых микроспоридий Terresporidia, – более 15 млн пар оснований (Pan et al., 2013). Таким образом, размер генома в пределах одной группы может различаться более чем в 25 раз.

Развернутая гипотеза, объясняющая данное явление, была выдвинута только в 2020 г. Авторы сопоставили известные геномы различных видов микроспоридий с их образом жизни, а также провели собственное исследование геномов разных видов микроспоридий, паразитирующих в одном и том же хозяине, и пришли к выводу, что на эволюцию генома микроспоридий может сильно влиять структура популяции, в которой существуют данные организмы и которая во многом зависит от характера их распространения (трансмиссии) в популяции хозяев (Naag et al., 2020). По мнению авторов, у микроспоридий, в жизненном цикле которых присутствуют специализированные механизмы вертикальной трансмиссии (передача из поколения в поколение, в частности трансовариальным путем от родителей к потомкам у микроспоридий насекомых), средний размер популяции оказывается значительно снижен, по сравнению с видами, передающимися горизонтально. На такие популяции в гораздо меньшей степени действуют силы естественного отбора, они подвергаются эффектам «дрейфа генов» и «бутылочного горлышка», что значительно увеличивает участие неадаптивных процессов в эволюции данных организмов (de Albuquerque et al., 2020; Naag et al., 2020). У микроспоридий, преимущественно передающихся вертикально за счет специализированных механизмов, в геноме могут накапливаться различные повторяющиеся последовательности ДНК и другие участки, не относящиеся к белок-

кодирующим последовательностям. И действительно, для подавляющего большинства микроспоридий с большим размером генома оказались характерны специализированные механизмы вертикальной трансмиссии, тогда как виды с наиболее компактными геномами передаются преимущественно горизонтально (среди особей одного поколения) (de Albuquerque et al., 2020; Naag et al., 2020).

В геномах различных видов микроспоридий найдено всего около 800 консервативных белков, участвующих в основном в таких процессах, как репликация ДНК, транскрипция и трансляция (Nakjang et al., 2013; Wadi, Reinke 2020). Интересно, что 32 семейства консервативных белков микроспоридий не обнаружены у других эукариот. Некоторые из этих белков функционируют как часть полярной трубки или оболочки споры, но функция большинства из них неизвестна (Nakjang et al., 2013; Wadi, Reinke 2020). Геном микроспоридий крайне вариативен и может содержать сотни уникальных белков, отсутствующих даже у близкородственных видов того же рода (Reinke et al., 2017). Из-за того, что многие белок-кодирующие последовательности микроспоридий, как и их геномы в целом, редуцированы и модифицированы, зачастую простого анализа присутствия или отсутствия у них генов, кодирующих белки, вовлеченные в определенный процесс, недостаточно для определения функционирования этой системы. Согласно результатам недавних исследований редуцированных рибосом микроспоридий, хотя в геноме данных видов сохраняется относительно полный набор рибосомальных белков, два из этих белков больше не являются структурными элементами данных органелл и выполняют в клетках микроспоридий другие функции (Melnikov et al., 2018; Barandun et al., 2019). К примеру, консервативный рибосомальный белок eS31y всех видов микроспоридий утрачивает значительную часть своей аминокислотной последовательности и связь с рибосомами. Однако данная молекула продолжает активно экспрессироваться в клетках микроспоридий и, вероятно, участвует в биосинтезе убиквитина данных организмов. Таким образом, можно сделать вывод, что многие компоненты клеток микроспоридий, которые идентифицируются с помощью автоматической аннотации геномов, могут утрачивать часть своих биологических функций из-за продолжающейся редукции генома данных организмов в эволюции (Melnikov et al., 2018).

Система энергетического метаболизма

Система энергетического обмена микроспоридий демонстрирует наиболее яркий пример их зависимости от хозяев. Некоторые из них полностью утратили способность к самостоятельному синтезу АТФ, всецело полагаясь на метаболическую систему хозяина (Wiredu et al., 2017). В целом, функционирование системы энергетического метаболизма канонических микроспоридий может быть описано следующим образом: (1) не обладая полноценными митохондриями, на стадии внутриклеточного развития эти паразиты получают АТФ, транспортируя его из инфицированных клеток хозяев с помощью уникальных АТФ-переносчиков (NTT translocases), приобретенных ими в результате горизонтального переноса генов от бактерий; и (2) на стадии спор они синтезируют это соединение посредством гликолиза с использованием глицерол-3-фосфатного челнока и альтернативной оксидазы для реокисления восстановительных эквивалентов, образующихся в ходе данного процесса (Williams et al., 2010). Эволюционно продвинутые микроспоридии из группы *Terresporidia* утрачивают альтернативную оксидазу и приобретают некий новый, на сегодняшний день не изученный механизм для поддержания гликолиза (Timofeev et al., 2020). Некоторые представители этой

группы также утрачивают способность к гликолизу и, по всей видимости, адаптируются к АТФ-независимому существованию на стадии споры и инфицированию хозяина (Keeling et al., 2010; Wiredu et al., 2017).

У мечниковеллид – базальных микроспоридий – также отсутствуют митохондрии и, соответственно, способность к окислительному фосфорилированию. Кроме того, у этих паразитов не обнаружена альтернативная оксидаза и характерные для других микроспоридий АТФ-переносчики. По всей видимости, данные организмы могут синтезировать АТФ за счет гликолиза, используя пока не известный механизм его поддержания. Авторы расшифровки геномов *Amphibamblys* sp. и *Metchnikovella incurvata* предполагают, что на стадии внутриклеточного развития мечниковеллиды, как и высшие микроспоридии, могут транспортировать из клетки хозяина АТФ, но используют для этого переносчики другого типа (MCF) (Mikhailov et al., 2017; Galindo et al., 2018), однако эта особенность еще не была подтверждена экспериментально.

Все представители розеллид обладают функциональными митохондриями и способностью к окислительному фосфорилированию (у *P. saccamoebae* эти органеллы еще не были выявлены морфологически; имеются данные только о митохондриальном геноме). У различных представителей группы может наблюдаться незначительная редукция данных органелл, которая, по всей видимости, происходит у разных видов независимо и заключается в утрате ими комплекса 1 окислительного фосфорилирования (James et al., 2013; Haag et al., 2014; Quandt et al., 2017). Интересно, что только у наиболее базального вида данной группы, *Rozella* sp., но не у других близкородственных микроспоридиям паразитов, были обнаружены подобные микроспоридиальным АТФ-переносчики, способные напрямую транспортировать АТФ из зараженной клетки хозяина (Dean et al., 2018). Данный факт можно объяснить тем, что эти переносчики могли быть приобретены независимо представителями рода *Rozella* sp. и каноническими микроспоридиями. Однако согласно исследованиям структуры и функций данных транспортеров, более вероятны их приобретение розеллидами и микроспоридиями от общего предка, и последующая утрата высшими розеллидами и базальными микроспоридиями (Heinz et al., 2014; Dean et al., 2018). Косвенным подтверждением этой гипотезы стало недавнее обнаружение нового семейства транспортеров АТФ (MFS transporters) в геномах у всех розеллид и микроспоридий и демонстрация потенциальной способности этих транспортеров работать аналогично АТФ-переносчикам (NTT translocases), т. е. участвовать в транспорте АТФ из клеток хозяев, зараженных этими паразитами (Major et al., 2019).

Собрав воедино представленные выше данные, можно выстроить краткое описание гипотетического эволюционного пути микроспоридий, в результате которого они стали экстремально специализированными внутриклеточными паразитами. Общий предок микроспоридий и грибов, вероятно, был свободноживущим эндобиотическим хищником или паразитоидом, который поражал организмы с выраженной клеточной стенкой и обладал амебофлагеллярной расселительной стадией. Этот организм имел полноценные, не редуцированные геном и систему энергетического метаболизма и по всем характеристикам, вероятно, был близок к современным афелидам. В дальнейшем данные организмы постепенно стали вступать в более тонкие взаимодействия с клетками хозяев и в какой-то момент перешли от простого поедания содержимого зараженных клеток к внутриклеточному паразитированию. На этом этапе начинается процесс редукции генома и функционального аппарата этих организмов, который до-

стиг своей высшей степени уже у самих микроспоридий. Важным этапом эволюции предков микроспоридий на этой стадии было приобретение ими уникальных АТФ-переносчиков, способных напрямую транспортировать данное соединение из клеток хозяина. Такие организмы больше зависели от своих хозяев, но все еще сохраняли митохондрии и способность к окислительному фосфорилированию. Наиболее близкими к такому предковому состоянию являются современные представители рода *Rozella*. На следующем этапе произошло резкое изменение морфологии расселительной стадии, с утратой жгутикового аппарата и ее превращением в неподвижную спору, обладающую специализированным аппаратом экструзии, что, вероятнее всего, могло быть связано с освоением нового круга хозяев – предков животных и простейших, не обладающих выраженной клеточной стенкой. На этом этапе редукция и специализация геномов данных организмов уже достигла беспрецедентной для других эукариот степени, однако они все еще сохраняли функциональные митохондрии и не достигли высшей степени зависимости от своих хозяев. Наиболее близки к такому предковому состоянию высшие розеллиды – *Paramicrosporidium*, *Mitosporidium* и др. Степень зависимости предков микроспоридий от их хозяев все возрастала и в какой-то момент их митохондрии были редуцированы до митосом, неспособных к синтезу АТФ. Близкими к такому состоянию являются современные базальные микроспоридии. И, наконец, максимальную степень редукции и специализации генома, значительное усложнение и совершенствование аппарата экструзии спор, а также полную утрату собственной системы энергетического метаболизма мы можем наблюдать у различных видов каноничных микроспоридий.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность ведущему научному сотруднику ФГБНУ ВИЗР (Санкт-Петербург, Пушкин, Россия) Юрию Сергеевичу Токареву за критическую оценку и правку рукописи статьи.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-14-50132.

Acknowledgements: The reported study was funded by RFBR, project number 19-14-50132.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Исси И.В., Воронин В.Н. 2007. Тип Microsporidia. В кн.: Алимов А.Ф. (гл. ред.). Протисты: Руководство по зоологии, ч. 2. СПб, Наука, 994–1045.
- Симакова А.В. 2014. Сравнение таксономической значимости морфологических и молекулярно-генетических признаков в систематике микроспоридий (Microsporidia) кровососущих комаров (Diptera: Culicidae). Паразитология 48 (4): 284–301.
- Тимофеев С.А. 2015. Современные представления о микроспориidioзе человека. Вестник РАМН 70 (2): 257–263.
- Токарев Ю.С., Симакова А.В., Тимофеев С.А., Малыш Ю.М., Соколова О.И., Исси И.В. 2016. Гостальная специфичность микроспоридий. Паразитология 50 (6): 446–459.
- Adl S.M., Bass D., Lane C.E., Lukeš J., Schoch C.L., Smirnov A., Agatha S., Berney C., Brown M.W., Burki F., Cárdenas P., Čepička I., Chistyakova L., delCampo J., Dunthorn M., Edvardsen B., Eglit Y., Guillou L., Hampl V., Heiss A.A., Hoppenrath M., James T.Y., Karmowska A., Karpov S., Kim E., Kolisko M., Kudryavtsev A., Lahr D.J., Lara E., LeGall L., Lynn D.H., Mann D.G., Massana R., Mitchell E.A., Morrow S., Park J.S., Pawlowski J.W., Powell M.J., Richter D.J., Rueckert S., Shadwick L., Shimano S., Spiegel F.W., Torruella G., Youssef N., Zlatogursky V., Zhang Q. 2019. Revisions to the classification, nomenclature, and diversity of Eukaryotes. Journal of Eukaryotic Microbiology 66: 4–119.

- Alexander W.G., Wisecaver J.H., Rokas A., Hittinger C.T. 2016. Horizontally acquired genes in early-diverging pathogenic fungi enable the use of host nucleosides and nucleotides. *PNAS* 113: 4116–4121.
- Barandun J., Hunziker M., Vossbrinck C.R., Klinge S. 2019. Evolutionary compaction and adaptation visualized by the structure of the dormant microsporidian ribosome. *Nature Microbiology* 4: 1798–1804.
- Bass D., Czech L., Williams B.A., Edric Berney C., Dunthorn M., Mah E.G., Torruella G.E., Stentiford G.D., Williams T.A. 2018. Clarifying the relationships between Microsporidia and Cryptomycota. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 65: 773–782.
- Capella-Gutiérrez S., Marcet-Houben M., Gabaldón T. 2012. Phylogenomics supports microsporidia as the earliest diverging clade of sequenced fungi. *BMC Biology* 10: 47.
- Corradi N. 2015. Microsporidia: eukaryotic intracellular parasites shaped by gene loss and horizontal gene transfers. *Annual Review of Microbiology* 69: 167–183.
- Corradi N., Pombert J.-F., Farinelli L., Didier E.S., Keeling P.J. 2010. The complete sequence of the smallest known nuclear genome from the microsporidian *Encephalitozoon intestinalis*. *Nature Communications* 1: 77.
- Corsaro D., Michel R., Walochnik J., Venditti D., Müller K.-D., Hauröder B., Wylezich C. 2016. Molecular identification of *Nucleophaga terricolae* sp. nov. (Rozellomycota), and new insights on the origin of the Microsporidia. *Parasitology Research* 115 (8): 3003–3011.
- Corsaro D., Walochnik J., Venditti D., Müller K.D., Hauröder B., Michel R. 2014. Rediscovery of *Nucleophaga amoebae*, a novel member of the Rozellomycota. *Parasitology Research* 113: 4491–4498.
- Corsaro D., Walochnik J., Venditti D., Steinmann J., Müller K.D., Michel R. 2014a. Microsporidia-like parasites of amoebae belong to the early fungal lineage rozellomycota. *Parasitology Research* 113: 1909–1918.
- Corsaro D., Wylezich C., Venditti D., Michel R., Walochnik J., Wegensteiner R. 2019. Filling gaps in the microsporidian tree: rDNA phylogeny of *Chytridiopsis typographi* (Microsporidia: Chytridiopsida). *Parasitology Research* 118: 169–180.
- Corsaro D., Walochnik J., Venditti D., Hauröder B., Michel R. 2020. Solving an old enigma: *Morellospora saccamoebae* gen. nov., sp. nov. (Rozellomycota), a Sphaerita-like parasite of free-living amoebae. *Parasitology Research* 119: 925–934.
- Cuomo C.A., Desjardins C.A., Bakowski M.A., Goldberg J., Ma A.T., Becnel J.J., Didier E.S., Fan L., Heiman D.I., Levin J.Z., Young S., Zeng Q., Troemel E.R. 2012. Microsporidian genome analysis reveals evolutionary strategies for obligate intracellular growth. *Genome Research* 22: 2478–2488.
- de Albuquerque N.R.M., Ebert D., Haag K.L. 2020. Transposable element abundance correlates with mode of transmission in microsporidian parasites. *Mobile DNA* 11: 19.
- Dean P., Sandra K.M., Williams T.A., Watson A.K., Major P., Nakjang S., Kozhevnikova E., Goldberg A.V., Kunji E.R.S., Hirt R.P., Embley T.M. 2018. Transporter gene acquisition and innovation in the evolution of Microsporidia intracellular parasites. *Nature Communications* 9 (1): 1–12.
- Dean P., Hirt R.P., Embley T.M. 2016. Microsporidia: why make nucleotides if you can steal them? *PLOS Pathogens* 12: e1005870.
- Dolgikh V.V., Senderskiy I.V., Pavlova O.A., Naumov A.M. and Beznoussenko G.V. 2011. Immunolocalization of an alternative respiratory chain in *Antonospora (Paranosema) locustae* spores: mitochondria retain their role in microsporidian energy metabolism. *Eukaryotic Cell* 10: 588–593.
- Galindo L.J., Torruella G., Moreira D., Timpano H., Paskerova G., Smirnov A., Nassanova E., López-García P. 2018. Evolutionary genomics of *Metchnikovella incurvata* (Metchnikovellidae): An early branching Microsporidium. *Genome Biology and Evolution* 10: 2736–2748.
- Gromov B.V. 2000. Algal parasites of the genera *Aphelidium*, *Amoebaphelidium*, and *Pseudaphelidium* from the Cienkovski's "monadinea" group as representatives of a new class. *Zoologicheskij Zhurnal* 79: 517–525.
- Heinz E., Hacker C., Dean P., Mifsud J., Goldberg A.V., Williams T.A., Nakjang S., Gregory A., Hirt R.P., Lucocq J.M. 2014. Plasma membrane-located purine nucleotide transport proteins are key components for host exploitation by microsporidian intracellular parasites. *PLOS Pathogens* 10: e1004547.
- Haag K.L., Pombert J.-F., Sun Y., de Albuquerque N.R.M., Batliner B., Fields P., Lopes T.F., Ebert D. 2020. Microsporidia with vertical transmission were likely shaped by nonadaptive processes. *Genome Biology and Evolution* 12: 3599–3614.
- Haag K.L., James T.Y., Pombert J.F., Larsson R., Schaer T.M., Refardt D., Ebert D. 2014. Evolution of a morphological novelty occurred before genome compaction in a lineage of extreme parasites. *PNAS* 111: 15480–15485.
- Hirt R.P., Logsdon J.M., Jr, Healy B., Dorey M.W., Doolittle W.F., Embley T.M. 1999. Microsporidia are related to Fungi: evidence from the largest subunit of RNA polymerase II and other proteins. *PNAS* 96: 580–585.
- James T.Y., Pelin A., Bonen L., Ahrendt S., Sain D., Corradi N., Stajich J.E. 2013. Shared signatures of parasitism and phylogenomics unite cryptomycota and microsporidia. *Current Biology* 23: 1548–1553.

- Jones M.D.M., Forn I., Gadelha C., Egan M.J., Bass D., Massana R., Richards T.A. 2011. Discovery of novel intermediate forms redefines the fungal tree of life. *Nature* 474: 200–203.
- Karpov S.A., Mamkaeva M.A., Aleoshin V.V., Nassonova E., Lilje O., Gleason F.H. 2014. Morphology, phylogeny, and ecology of the aphelids (Aphelidea, Opisthokonta) and proposal for the new superphylum Opisthosporidia. *Frontiers in Microbiology* 5: 1–11.
- Karpov S.A., Mikhailov K.V., Mirzaeva G.S., Mirabdullaev I.M., Mamkaeva K.A., Titova N.N., Aleoshin V.V. 2013. Obligate phagotrophic aphelids turned out to branch with the earliest-diverging fungi. *Protist* 164: 195–205.
- Karpov S.A., Torruella G., Moreira D., Mamkaeva M.A., López-García P. 2017. Molecular phylogeny of *Paraphelidiumletcheri* sp. nov. (Aphelida, Opisthosporidia). *Journal of Eukaryotic Microbiology* 64: 573–578.
- Keeling P.J., Luker M.A., Palmer J.D. 2000. Evidence from beta-tubulin phylogeny that microsporidia evolved from within the fungi. *Molecular Biology and Evolution* 17: 23–31.
- Keeling P.J., Corradi N., Morrison H.G., Haag K.L., Ebert D., Weiss L.M., Akiyoshi D.E., Tzipori S. 2010. The reduced genome of the parasitic microsporidian *Enterocytozoon bieneusi* lacks genes for core carbon metabolism. *Genome Biology and Evolution* 2: 304–309.
- Lara E., Moreira D., López-García P. 2010. The environmental clade LKM11 and *Rozella* form the deepest branching clade of fungi. *Protist* 161: 116–121.
- Letcher P.M., Powell M.J. 2018. A taxonomic summary and revision of *Rozella* (Cryptomycota). *IMA Fungus* 9: 383–399.
- Letcher P.M., Powell M.J. 2019. A taxonomic summary of Aphelidiaceae. *IMA Fungus* 1 (1): 4.
- Major P., Sendra K.M., Dean P., Williams T.A., Watson A.K., Thwaites D.T., Embley T.M., Hirt R.P. 2019. A new family of cell surface located purine transporters in microsporidia and related fungal endoparasites. *eLife* 8: e47037.
- Martin-Hernández R., Bartolomé C., Chejanovsky N., Le Conte, Y., Dalmon A., Dussaubat C., García-Palencia P., Meana A., Pinto M.A., Soroker V., Higes M. 2018. *Nosema ceranae* in *Apis mellifera*: a 12 years post-detection perspective. *Environmental Microbiology* 20 (4): 1302–1329.
- Mikhailov K.V., Simdyanov T.G., Aleoshin V.V. 2017. Genomic survey of a hyperparasitic microsporidian *Amphiamblus* sp. (Metchnikovellidae). *Genome Biology and Evolution* 9: 454–467.
- Melnikov S.V., Manakongtreecheep K., Rivera K.D., Makarenko A., Pappin D.J., Soll D. 2018. Muller's ratchet and ribosome degeneration in the obligate intracellular parasites Microsporidia. *International Journal of Molecular Sciences* 19 (12): 4125.
- Nakjang S., Williams T.A., Heinz E., Watson A.K., Foster P.G., Sendra K.M., Heaps S.E., Hirt R.P., Embley T.M. 2013. Reduction and expansion in microsporidian genome evolution: new insights from comparative genomics. *Genome Biology and Evolution* 5: 2285–2303.
- Powell M.J., Letcher P.M., James T.Y. 2017. Ultrastructural characterization of the host-parasite interface between *Allomyces anomalus* (Blastocladiomycota) and *Rozella allomycis* (Cryptomycota). *Fungal Biology* 121: 561–572.
- Powell M.J., Letcher P.M. 2019. Ultrastructure of early stages of *Rozella allomycis* (Cryptomycota) infection of its host, *Allomyces macrogynus* (Blastocladiomycota). *Fungal Biology* 123 (2): 109–116.
- Pan G., Xu J., Li T., Xia Q., Liu S.L., Zhang G., Li S., Li C., Liu H., Yang L., Liu T., Zhang X., Wu, Z., Fan W., Dang X., Xiang H., Tao M., Li Y., Hu J., Li Z., Lin L., Luo J., Geng L., Wang L., Long M., Wan Y., He N., Zhang Z., Lu C., Keeling P.J., Wang J., Xiang Z., Zhou Z. 2013. Comparative genomics of parasitic silkworm microsporidia reveal an association between genome expansion and host adaptation. *BMC Genomics* 14: 186.
- Quandt C.A., Beaudet D., Corsaro D., Walochnik J., Michel R., Corradi N., James T.Y. 2017. The genome of an intranuclear parasite, *Paramicrosporidium saccamoebae*, reveals alternative adaptations to obligate intracellular parasitism. *eLife* 6: e29594.
- Reinke A.W., Balla K.M., Bennett E.J., Troemel E.R. 2017. Identification of microsporidia host-exposed proteins reveals a repertoire of rapidly evolving proteins. *Nature Communications* 8: 14023.
- Seto K., Matsuzawa T., Kuno H., Kagami M. 2020. Morphology, ultrastructure, and molecular phylogeny of *Aphelidium collabens* sp. nov. (Aphelida), a parasitoid of a green alga *Coccomyxa* sp. *Protist* 171: 125728.
- Stentiford G.D., Beemel J., Weiss L.M., Keeling P.J., Didier E.S., Williams B.P., Bjornson S., Kent M.L., Freeman M.A., Brown M.J.F., Troemel E.R., Roesel K., Sokolova Y., Snowden K.F., Solter L. 2016. Microsporidia – Emergent pathogens in the global food chain. *Trends in Parasitology* 32: 336–348.
- Stentiford G.D., Ramilo A., Abollo E., Kerr R., Bateman K.S., Feist S.W., Bass D., Villalba A. 2017. *Hyperspora aquatica* n. gen., n. sp. (Microsporidia), hyperparasitic in *Marteilia cochillia* (Paramyxida), is closely related to crustacean-infecting microsporidian taxa. *Parasitology* 144 (2): 186–199.
- Tedersoo L., Sánchez-Ramírez S., Kõljalg U., Bahram M., Döring M., Schigel D., May T., Ryberg M., Abarenkov K. 2018. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. *Fungal Diversity* 90: 135–159.

- Timofeev S., Tokarev Y., Dolgikh V. 2020. Energy metabolism and its evolution in Microsporidia and allied taxa. *Parasitology Research* 119 (5): 1433–1441.
- Torruella G., Grau-Bové X., Moreira D., Karpov S.A., Burns J.A., Sebé-Pedrós A., Völcker E., López-García P. 2018. Global transcriptome analysis of the aphelid *Paraphelidium tribonemae* supports the phagotrophic origin of fungi. *Communications Biology* 1: 231.
- Tsaousis A.D., Kunji E.R., Goldberg A.V., Lucocq J.M., Hirt R.P., Embley T.M. 2008. A novel route for ATP acquisition by the remnant mitochondria of *Encephalitozoon cuniculi*. *Nature* 453: 553–556.
- Wadi L., Reinke A.W. 2020. Evolution of microsporidia: An extremely successful group of eukaryotic intracellular parasites. *PLOS Pathogens* 16(2): e1008276
- Williams B.A., Elliot C., Burri L., Kido Y., Kita K., Moore A.L., Keeling P.J. 2010. A broad distribution of the alternative oxidase in microsporidian parasites. *PLOS Pathogens* 6: e1000761
- Williams B.A., Hirt R.P., Lucocq J.M., Embley T.M. 2002. A mitochondrial remnant in the microsporidian *Trachipleistophora hominis*. *Nature* 418: 865–869.
- Wiredu B.D., Jaroenlak P., Prachumwat A., Williams T.A., Bateman K.S., Itsathitphaisarn O., Sritunyaluksana K., Paszkiewicz K.H., Moore K.A., Stentiford G.D., Williams B.A. 2017. Decay of the glycolytic pathway and adaptation to intranuclear parasitism within Enterocytozoonidae microsporidia. *Environmental Microbiology* 19: 2077–2089.
- Yakovleva Y., Nassonova E., Lebedeva N., Lanzoni O., Petroni G., Potekhin A., Sabaneyeva E. 2020. The first case of microsporidiosis in *Paramecium*. *Parasitology* 147 (9): 957–971.

MICROSPORIDIA AND THEIR CLOSEST RELATIVES: CURRENT IDEAS ABOUT THE EVOLUTION OF A UNIQUE GROUP OF EXTREME PARASITES

S. A. Timofeev, I. V. Senderskiy, V. S. Zhuravlev, V. V. Dolgikh

Key words: Microsporidia, Aphelida, Cryptomycota, intracellular parasites, evolution

SUMMARY

This review presents modern ideas about the evolution and phylogeny of a group of obligate intracellular eukaryotic parasites – the Microsporidia. In the process of adaptation to the intracellular parasitism, the genome and functional apparatus of these organisms was significantly reduced and modified. The systematic position of this group remained unclear for a long time, and it was not known for certain how the evolution of microsporidia occurred, when and how they acquired their unique adaptations to the parasitic lifestyle. A real breakthrough in the study of the evolution of microsporidia has been made only in the last few years. The groups that occupy the position closest to microsporidia on the tree of life were found and described: Cryptomycota (Rozellida) and Aphelida. Sequencing of the genomes of representatives of these groups, which also belong to intracellular parasites, and the first genomic data on the representatives of the basal branches of microsporidia obtained in 2013–2020, made it possible to take a fresh look at the evolution of microsporidia and their closest relatives, to find intermediate forms on the way to adaptation to intracellular parasitism.

УДК 594.38 + 591.113.1 + 571.27

ЗАЩИТНЫЕ РЕАКЦИИ ЛЕГОЧНЫХ МОЛЛЮСКОВ ПРИ ПАРАЗИТАРНОЙ ИНВАЗИИ

© 2020 г. Г. Л. Атаев*, Е. Е. Прохорова, А. С. Токмакова

Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена,
кафедра зоологии, лаборатория экспериментальной зоологии,
наб. р. Мойки, д. 48, Санкт-Петербург, 191186 Россия
*e-mail: ataev@herzen.spb.ru

Поступила в редакцию 27.07.2020 г.

После доработки 21.08.2020 г.

Принята к печати 27.08.2020 г.

В последние десятилетия во всем мире активно изучаются защитные реакции легочных моллюсков. В результате накоплены многочисленные сведения о различных аспектах иммунного ответа пульмонат как на клеточном, так и на гуморальном уровнях. Анализ этого материала в последние годы посвящено несколько обзорных статей (Adema, Loker, 2015; Pila et al., 2016a; Melillo et al., 2018; Li et al., 2020). Однако в отечественной литературе подобные работы опубликованы более пятнадцати лет назад (Атаев, Полевщиков, 2004; Атаев и др., 2005а, б; Галактионов, 2005). Именно с целью обобщения современных представлений об иммунном ответе легочных моллюсков и обозначения основных проблем, связанных с их изучением, выполнен данный обзор. В работе рассматриваются защитные реакции моллюсков на различные факторы иммунизации, но основное внимание уделяется иммунным реакциям на трематодную инвазию. Это обусловлено не только большим значением пульмонат как промежуточных хозяев трематод, но и ролью последних в развитии иммунитета моллюсков.

Ключевые слова: легочные моллюски, клеточный иммунитет, гуморальный иммунитет, гемоциты, гемопоэз

DOI: 10.31857/S1234567806050028

У позвоночных животных наряду с системой врожденного иммунитета функционирует система адаптивного иммунитета. Ее отличительными признаками являются способность распознавать антигены и реагировать на них с образованием клонов лимфоцитов и высокоаффинных антител, а также наличие клеточной иммунной памяти, которая позволяет более эффективно реагировать на патоген при повторной иммунизации.

Долгое время существование подобной защитной системы у беспозвоночных большинством ученых не допускалось из-за отсутствия у этих животных «истинных» лимфоцитов и антител. Однако в последнее время стали появляться данные, свидетельствующие о наличии у представителей различных групп беспозвоночных, прежде

всего у моллюсков и артропод, защитных механизмов, демонстрирующих признаки адаптивного иммунитета (Rowley, Powell, 2007; Adema, Loker, 2015; Gourbal et al., 2018 и др.). В частности, беспозвоночные животные могут быстрее и эффективнее реагировать на чужеродный фактор при повторной иммунизации. Доказательства наличия иммунологической памяти у беспозвоночных получены при проведении исследований инфекционного иммунитета, трансплантационного иммунитета и иммунного праймирования с использованием чужеродных молекул. В то же время остаются дискуссионными многие вопросы, прежде всего связанные с раскрытием механизмов иммунных реакций, включая иммунологическую память (Gourbal et al., 2018; Melillo et al., 2018).

Современная концепция врожденного иммунитета, основанная на способности клеток распознавать патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (образы патогенности) (Janeway, Medzhitov, 2002), позволила по-новому взглянуть на проблему специфичности в системе врожденного иммунитета. Выяснилось, что явление групповой специфичности к патогенам – важная характеристика клеток врожденного иммунитета, которая реализуется благодаря наличию у них разнообразных патоген-распознающих рецепторов. В то же время, раскрытие путей реализации основных форм адаптивного иммунного ответа показало невозможность его запуска и реализации без компонентов системы врожденного иммунитета. Это привело к пересмотру самого понятия «специфичность», в том числе и в отношении беспозвоночных животных. При этом механизмы защитных реакций беспозвоночных могут различаться как по продолжительности, так и по специфичности в зависимости от природы патогена (Adema, Loker, 2015).

Традиционно рассматриваются два аспекта иммунных реакций животных: клеточный и гуморальный. Однако ключевым звеном осуществления иммунных реакций на любом уровне признаются циркулирующие клетки, которые, кроме участия в элиминации чужеродного, также задействованы в образовании гуморальных факторов (Adema, Loker, 2015). Соответственно, провести четкую границу между клеточным и гуморальным иммунитетом зачастую невозможно (рис. 1).

Моллюски среди беспозвоночных обладают одними из наиболее сложных и эффективных иммунных реакций. Данный обзор посвящен анализу защитных реакций легочных моллюсков, которые в настоящее время, наряду с насекомыми, наиболее активно изучаются в этом направлении. Понятие «иммунитет» в отношении моллюсков подразумевает способность последних адресно распознавать паразитических представителей таксонов разного уровня, включая конкретные виды и даже штаммы паразитов, а также активировать защитные механизмы, которые в итоге приводят к элиминации патогена.

Защитные реакции моллюсков (прежде всего, клеточные) изучаются с середины прошлого века. Накоплен большой экспериментальный материал о характере протекания трематодной инвазии для разных моделей (см. ниже). К сожалению, многие прекрасно спланированные и проведенные исследования иллюстрируют ход иммунных реакций, но не раскрывают механизмов их реализации. Поэтому большинство сделанных выводов носят предположительный характер. И только в последние годы исследования иммунного ответа моллюсков вышли на новый теоретический и методический уровни. Так, благодаря внедрению новых подходов стали возможны исследования паразито-хозяйственных отношений на молекулярном уровне – генотипической



Рисунок 1. Компоненты иммунитета пульмонат.
Figure 1. Components of immunity of pulmonate molluscs.

совместимости улиток и трематод и межмолекулярных взаимодействий компонентов системы иммунитета и паразита в ходе трематодной инвазии.

Анализу старых работ, многие из которых стали классическими, мы посвятили предыдущие статьи (Атаев, Полевщиков, 2004; Атаев и др., 2005а, б). Здесь же мы постарались обобщить, прежде всего, результаты современных исследований иммунных реакций легочных моллюсков.

За время своего существования моллюски приобрели очень широкий круг симбионтов, включающий как простых комменсалов, так и облигатных и узкоспецифичных паразитов, относящихся к самым разным систематическим группам – от протистов до целомических червей. Однако развитие иммунитета легочных моллюсков и в целом гастропод прежде всего связано с эволюционно сложившимися паразито-хозяинными системами «трематоды–моллюски» (Cribb et al., 2001; Атаев, Полевщиков, 2004; Lockyer et al., 2004; Adema, Loker, 2015), в которых брюхоногие моллюски выступают в качестве первых, а иногда и вторых промежуточных хозяев (в случае развития в них метацеркарий). Мирацидии избирательно заражают улиток, превращаются в них в материнскую спороцисту, в результате развития и размножения которой формируются дочерние поколения партенит (редии/спороцисты), способные отрождать следующие генерации партенит и (или) личинок марит – церкарий.

Формирование инфрапопуляций партенит в моллюске может подчиняться различной стратегии паразитизма, однако во всех случаях подразумевает переключение ресурсов хозяина на ее поддержание и развитие. В результате происходят значительные

изменения в физиологии хозяина. Одним из широко известных воздействий является эффект паразитарной кастрации, проявляющийся в подавлении способности моллюска размножаться. При этом реализуются две основные стратегии внутримоллюсковое развития трематод: формирование инфрапопуляции партенит лимитированного либо пролонгированного типов (Атаев, 2017). В зависимости от этого зараженные улитки эмитируют церкарий от нескольких дней до нескольких месяцев и даже лет. И все это время партениты находятся в тесном контакте с тканями моллюска-хозяина и их иммунной системой. В результате длительной коэволюции между трематодами и моллюсками сложились тесные взаимодействия, отражающие уровень противоречивых потребностей паразита и хозяина (Lockyer et al., 2004).

При долгом соседстве высокопатогенной линии паразитов с определенной группой хозяев можно ожидать, что иммунитет моллюсков станет более специфичным в отношении распознавания и элиминации определенного вида (штамма) трематод, по сравнению с другими гельминтами, не представляющими для них опасности.

Результаты изучения специфичности паразито-хозяинных систем «трематоды–моллюски» показали, что повторное заражение может вызывать два основных варианта иммунного ответа моллюска. С одной стороны, имеется большое количество работ, в которых отмечается повышение резистентности улиток на повторное заражение любым видом трематод (Lie, Heyneman, 1975; Lie et al., 1982, 1983; Sullivan et al., 1982; Sire et al., 1998). Это явление получило название «**личиночного антагонизма**» (Sullivan, Hu, 1996; Sire et al., 1998). Например, при последовательном заражении *Biomphalaria glabrata* сначала *Schistosoma mansoni*, а затем *Cotylurus lutzi* двойного заражения не возникает в том случае, если партениты шистосом развивались в моллюске 15 или более дней (Bash, 1969). Действительно, относительно небольшая экстенсивность двойной (тем более, тройной) трематодной инвазии улиток в природе отмечалась многими исследователями. Однако следует учитывать, что явление личиночного антагонизма может базироваться не только на защитных реакциях моллюска-хозяина (Sire et al., 1998), но и возникать опосредованно – вследствие взаимодействия паразитов при множественном заражении (Mouahid, Mone, 1990; Атаев, Добровольский, 1992; Combes, 1995). К сожалению, степень реализации того или иного механизма повышения резистентности моллюсков к повторной инвазии в природе практически не изучена.

С другой стороны, предварительная инвазия одним видом трематод в ряде случаев снижает последующий иммунный ответ моллюска на заражение паразитами других видов (формируется «**приобретенная чувствительность**»). Это, в свою очередь, может приводить к выживанию неспецифичного паразита. Например, заражение моллюсков *Biomphalaria glabrata* спороцистами *Echinostoma paraensei* приводит к подавлению некоторых компонентов иммунного ответа *Biomphalaria glabrata* (Adema et al., 2010; Hanington et al., 2010a), в том числе тех, которые отвечают за предотвращение развития *Schistosoma mansoni* (Lie et al., 1977; Loker et al., 1986; Bayne, Yoshino, 1989). Гемоциты улиток, зараженных эхиностомами, теряют способность оседать на поверхности чужеродных объектов и образовывать вблизи них любые агглютинации, включая капсулы (Lie, Heyneman, 1976b).

Предшествующая инвазия моллюсков *Biomphalaria orbignyи* и *B. oligoza* трематодами *Zygocotyle lunata* делает моллюсков, обычно устойчивых к шистосомной инвазии, чувствительными к заражению *Schistosoma mansoni* (Spatz et al., 2012). Известно также,

что *Echinostoma paraensei* оказывает сильное влияние на структуру и функциональное состояние гемоцитов моллюска-хозяина, предотвращая формирование капсул вокруг спороцист *Schistosoma mansoni* у моллюсков резистентных штаммов (Loker et al., 1992). Возможно, явление приобретенной чувствительности проявляется в формировании новых специфичных паразито-хозяинных отношений, что на практике может способствовать увеличению числа видов моллюсков – потенциальных хозяев конкретных видов трематод. В результате происходит расширение географии этих паразитов.

КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ

Гемоциты

За выполнение иммунных реакций моллюсков на любом уровне отвечают циркулирующие клетки гемолимфы моллюсков – гемоциты (Атаев, Полевщиков, 2004; Pila et al., 2016a).

Морфологическая классификация гемоцитов пульмонат основана на исследованиях, проведенных с помощью световой и электронной микроскопии (Sminia, 1972; Harris, 1975; Sminia, Barendsen 1980; Ottaviani, 1983; Adema et al., 1992; Sasaki et al., 2003; Cavalcanti et al., 2012; Ataev et al., 2016; Pila et al., 2016a; Prokhorova et al., 2018; Tokmakova et al., 2020 и др.), проточной цитометрии (Martins-Souza et al., 2009; Barcante et al., 2012; Ataev et al., 2016; Prokhorova et al., 2018; Tokmakova et al., 2020), на данных по изучению функциональной активности клеток (Cheng, 1984), по разделению клеток центрифугированием в градиенте плотности (Adema et al., 1994), по связыванию антител (Yoshino, Granath, 1985) и ферментных маркеров (Sminia, Barendsen, 1980; Joky et al., 1983; Yoshino, Granath, 1983).

В разных работах описывается различное количество типов клеток гемолимфы пульмонат (Sminia, 1972; Rondelaud, Barthe, 1981; Ottaviani, Franchini, 1988; van der Knaap et al., 1993; Matricon-Condrat, Letocart, 1999; Martins-Souza et al., 2009; Cavalcanti et al., 2012; Прохорова и др., 2018 и др.). Ситуация осложняется множеством терминов, используемых для обозначения последних: лейкоциты, лимфоциты, фагоциты, макрофаги, гранулоциты, амебоциты и др. (Cheng, 1975; Jeong, Heyneman, 1976; Cheng, Guida, 1980; Sminia, Barendsen, 1980; Stumpf, Gilbertson, 1980; Sminia, 1981; Barracco et al., 1993; Adamowicz, Bolaczek, 2003). Это разнообразие может быть связано с использованием при их описании различных признаков: морфологических, ультраструктурных особенностей, биохимических маркеров (Pila et al., 2016a).

Тем не менее, большинство исследователей выделяют у пульмонат два основных типа гемоцитов – гранулоциты и гиалиноциты (рис. 2) (Cheng, 1975, 1984; Ottaviani, 2006; Yoshino et al., 2013; Ataev et al., 2016; Pila et al., 2016a, 2017; Prokhorova et al., 2018; Tokmakova et al., 2020). Эти клетки различаются по ряду признаков: размеру, способности образовывать псевдоподии, фагоцитарной активности, количественному соотношению в кровотоке, а также набором и строением органелл (Barbosa et al., 2006; Souza, Andrade, 2006).

Гемоциты участвуют в различных физиологических процессах в организме моллюска, включая иммунные реакции. В частности, они задействованы в распознавании патогенов (Gust et al., 2013), фагоцитозе (Sminia, 1972, 1981; van der Knaap, 1981; Yamaguchi et al., 1988; Атаев, Полевщиков, 2004; Ataev et al., 2016; Pila et al., 2016a; 2017), инкапсуляции чужеродных объектов (Sminia et al., 1974; Harris, 1975; Lie, Heyneman, 1976b; Loker et al., 1982; Jourdane, Cheng, 1987; Ataev, Coustau, 1999;

Furuta, Yamaguchi, 2001; Прохорова и др., 2015), образовании цитотоксических молекул – метаболитов кислорода и азота, антимикробных белков (Dikkeboom et al., 1988; Adema et al., 1992, 1994; Humphries, Yoshino, 2008; Seppälä, Leicht, 2013), выработке опсонинов (например, лектинов) (Horak, Deme, 1998) и цитокинов (De Jong-Brink, 1994, Gust et al., 2013). Кроме этого, гемоциты участвуют в процессах регенерации (Franchini, Ottaviani, 2000; Furuta, Yamaguchi, 2001; Hermann et al., 2005) и формировании раковины (Mount et al., 2004). Участие в таких процессах может значительно сокращать количество циркулирующих гемоцитов, однако эти потери восполняются в результате гемопоэза.

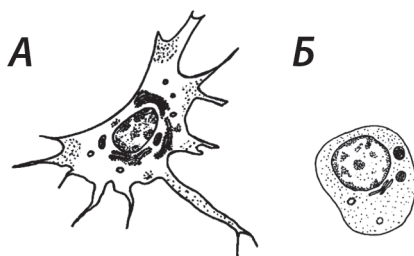


Рисунок 2. Гемоциты моллюска *Biomphalaria glabrata*. А – гранулоцит, Б – гиалиноцит.
Figure 2. Hemocytes of *Biomphalaria glabrata*. А – granulocyte, Б – hyalinocyte.

Клеточные защитные реакции

Главной функцией гемоцитов является защита внутренней среды организма хозяина от различных чужеродных факторов.

Распознавание чужеродного – центральное событие иммунного ответа, обеспечивающее запуск всего каскада как клеточных, так и гуморальных реакций, необходимых для элиминации патогена.

Распознавание в системе врожденного иммунитета связано со способностью клеток узнавать так называемые образы патогенности (или патоген-ассоциированные молекулярные паттерны, pathogen-associated molecular patterns, PAMP) и образы опасности (damage-associated molecular patterns, DAMP). PAMP и DAMP содержат молекулярные мотивы, свидетельствующие о потенциальной опасности их носителя (Janeway, Medzhitov, 2002). Считается, что такая молекулярная «метка» не является высокоспецифичной и может являться признаком целой группы патогенов. Рецепторы клеток врожденного иммунитета (как мембранные, так и секретируемые), способные распознавать PAMP и DAMP, относят к паттерн-распознающим рецепторам (pattern recognition receptors, PRRs). PRRs позвоночных и беспозвоночных животных имеют различную молекулярную структуру и происхождение. Однако не только иммунокомпетентные клетки, но и клетки барьерных и соединительных тканей могут экспрессировать такие рецепторы (Akira et al., 2006; Nie et al., 2018). К PRR относят Toll-подобные рецепторы (toll-like receptors, TLR), лектины, рецепторы нуклеиновых кислот (nucleotide-oligomerizing domain receptors, NOD), антибактериальные белки, компоненты комплемента.

Благодаря развитию технологий высокопроизводительного секвенирования и протеомного анализа, в последние несколько лет доказано наличие у моллюсков основных групп PRR: TLR, липополисахарид-связывающий белок (LBP), маннан и ламинарин-

связывающие молекулы, пептидогликан-распознающие белки (peptidoglycan recognition proteins, PGRP), белок, связывающий грамотрицательные бактерии, белки гваделупского комплекса резистентности (guadeloupe resistance complex, GRC) (Dhelly et al., 2015), лектины нескольких групп (см. ниже).

Несмотря на разнообразие рецепторов, наиболее изученными являются TLR. Это самая древняя группа PRR, обладающая наиболее широким спектром распознавания чужеродного. С момента открытия у *Drosophila melanogaster* (Anderson et al., 1985) они обнаружены у большинства позвоночных и беспозвоночных животных. Молекулярная структура TLR и сигнальные пути, обеспечивающие активацию клетки при взаимодействии патогена с TLR, очень консервативны (Takeda, Akira, 2015; Pila et al., 2016b; Adema et al., 2017; Wallet et al., 2018). Однако разные группы TLR «специализируются» на распознавании разных PAMP и DAMP (Takeda et al., 2003).

У *Biomphalaria glabrata* выявлено 56 генов, кодирующих TLR двух разных типов (V-TLR и P-TLR) (Adema et al., 2017). Сравнительный анализ транскриптомов гемоцитов показал более высокий уровень конститутивной экспрессии гена TLR (BgTLR) моллюсков *B. glabrata*, резистентных к заражению *Schistosoma mansoni* (линия BS-90), по сравнению с чувствительными (линия М) (Pila et al., 2016b). Заражение *S. mansoni* приводит к 27-кратному росту экспрессии гена в гемоцитах моллюсков резистентной линии, в то время как в гемоцитах моллюсков чувствительной линии экспрессия не изменяется. При этом нокдаун гена с помощью комплементарной РНК (siRNA) приводит к значительному (на 43 %) повышению чувствительности к заражению *S. mansoni* (Pila et al., 2016b) и снижению фагоцитарной активности гемоцитов (Pila et al., 2017).

Таким образом, наличие определенного набора генов TLR рассматривается в качестве одного из возможных механизмов, определяющих специфическую совместимость в системе «трематоды-моллюск» (Pila et al., 2016b).

Следующим за распознаванием этапом иммунной реакции является **адгезия гемоцитов** на поверхности чужеродного объекта. Она является необходимым условием для реализации фагоцитоза и других форм клеточного ответа моллюсков. Сравнительный анализ транскриптомов моллюсков *Biomphalaria glabrata* резистентных и чувствительных к заражению *Echinostoma caproni* линий показал наличие нескольких групп молекул адгезии: дерматопонтины (двух типов), матрилины, интегрины и кадгеринины (Bouchut et al., 2006).

Дерматопонтины являются секреторными белками, выявленными у беспозвоночных разных групп. Их участие в процессах адгезии доказано для губок, членистоногих и моллюсков (Bouchut et al., 2006; Sarashina et al., 2006; Coustau et al., 2015). Уровень экспрессии генов дерматопонтинов у моллюсков резистентных линий повышается при трематодной инвазии. При этом максимальный уровень экспрессии наблюдается между 48 и 72 часами после заражения, что совпадает с динамикой инкапсуляции спороцист гемоцитами (Mitta et al., 2005). У моллюсков, чувствительных линий наблюдается постепенное снижение экспрессии дерматопонтина при заражении *Echinostoma paraensei* (Hanington et al., 2010a).

Матрилины демонстрируют схожую динамику экспрессии у резистентных моллюсков, однако у чувствительных интактных моллюсков их экспрессия выше, чем у резистентных (при заражении *E. caproni*). Это послужило основанием для предположения, что чувствительные моллюски имеют более мощную систему коагуляции гемолимфы, которая может препятствовать миграции гемоцитов (Bouchut et al., 2006).

Другая группа трансмембранных белков, вовлеченных в межклеточные взаимодействия и формирование внеклеточного матрикса – кадгерины – также сильнее экспрессируется у чувствительных моллюсков, зараженных *E. caproni*, чем у резистентных. При этом показано снижение их экспрессии у моллюсков *Biomphalaria glabrata*, повторно зараженных *Schistosoma mansoni* (Pinaud et al., 2019).

Различная способность циркулирующих клеток к адгезии и фагоцитозу может быть обусловлена разным набором молекул адгезии у разных типов гемоцитов (Hermann et al., 2008). Эта особенность сказывается на участии последних в клеточных защитных реакциях.

На начальных этапах инвазии у моллюсков развивается неспецифическая **первичная клеточная реакция**. Она осуществляется за счет гемоцитов, устремляющихся из близлежащих тканей и циркуляции в очаг воспаления, где они способны к дальнейшей агрегации, агглютинации, инкапсуляции и фагоцитозу проникших патогенов (Cheng, Jourdan, 1987; Атаев, Полевщиков, 2004; Токмакова, 2018).

Неспецифичность этой реакции выражена в сходном протекании в ответ на внедрение чужеродного фактора любой природы (алло- и ксенотрансплантаты, паразиты) (Jourdan, Cheng, 1987; Атаев, Coustau, 1999; Прохорова и др., 2015). Во всех случаях вокруг патогена образуется скопление расплывающихся гемоцитов, пытающихся изолировать его от окружающих тканей. Результатом эффективной первичной реакции может стать: гибель патогена; его долговременная изоляция внутри гемоцитарной капсулы; в случае локализации патогена вблизи покровов моллюска возможно его «выдавливание» во внешнюю среду и купирование тканевых последствий проникновения (Lie, Heuneman, 1976a). Все перечисленные механизмы первичной клеточной реакции могут реализоваться при трематодной инвазии pulmonat. В зависимости от вида (линии) моллюска и вида трематод, а также их локализации в хозяине первичная реакция выражена по-разному. Во многих случаях она приводит не только к изоляции паразита, но и к его гибели.

Однако в большинстве случаев, независимо от последствий первичной реакции, наблюдается активация гемопоэза легочных моллюсков (см. ниже), обеспечивающая запуск **вторичной клеточной реакции**. Необходимость в ней обусловлена недостатком имеющихся в циркуляции гемоцитов. В случае эффективности первичной реакции задачей вновь образованных клеток является участие в ликвидации ее последствий, либо завершение инкапсуляции паразита в районе его начальной локализации в хозяине (рис. 3).

Более сложно она протекает при миграции материнской спороцисты после завершения ею метаморфоза. Если первичная клеточная защитная реакция оказалась недостаточно эффективной для изоляции и гибели спороцисты, последняя покидает район начальной локализации и перемещается в другие органы. Здесь возможно несколько основных вариантов поведения гемоцитов, мультипликация которых вызвана трематодной инвазией.

Первый, и наиболее естественный для понимания клеточных иммунных реакций вариант – отмеченное выше продолжение первичной реакции в форме **инкапсуляции** либо формирование капсулы вокруг партенит, окончательно поселившихся во внутренних органах моллюска-хозяина. Многочисленные гемоциты образуют вокруг паразита мощную капсулу. При этом между внутренней поверхностью последней и

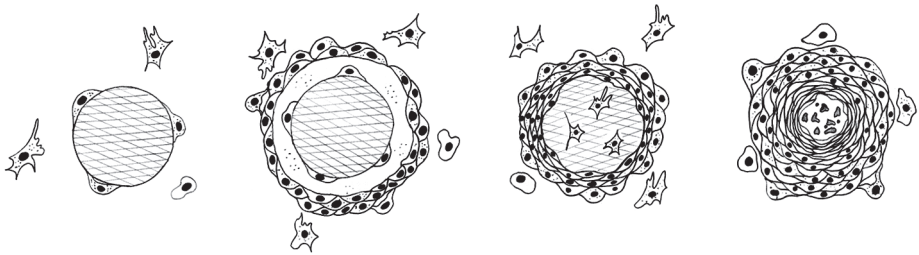


Рисунок 3. Схема инкапсуляции партенит гемócитами моллюска. При проникновении патогена вначале происходят миграция гемоцитов из близлежащих тканей и циркуляции. В дальнейшем количество гемоцитов возрастает за счет работы гемопоэтических органов, и патоген инкапсулируется. После гибели паразита происходит разборка капсулы.

Figure 3. A scheme of encapsulation of parthenitae by molluscan hemocytes. When a pathogen enters, hemocytes first migrate from the nearby tissues and circulation. Then their number increases due to the work of hematopoietic organs, and the pathogen is encapsulated. After the death of the parasite, the capsule is disassembled.

телом паразита сохраняется узкий просвет. Возможно, именно здесь накапливаются цитотоксические вещества, выделяемые клетками гемолимфы, которые и инициируют начало процесса разрушения чужеродных объектов. Предполагается, что этими веществами могут быть активные формы кислорода и оксид азота, вырабатываемые гемоцитами (Connors, Yoshino, 1990; Connors et al., 1991; Adema et al., 2001; Атаев и др., 2005б). Внутри такой капсулы происходит гибель паразита, а затем фагоцитоз мертвых клеток спороцисты и внутренних слоев капсулы (см. Атаев, Полевщиков, 2004).

После ликвидации очага воспаления наблюдается разборка внешних слоев капсулы. При этом строение гемопоэтических структур и количественные характеристики клеточного состава гемолимфы возвращаются в исходное состояние. Аналогичные проявления клеточного иммунитета в формировании капсул вокруг чужеродных факторов описаны как для беспозвоночных, так и для позвоночных животных (Галактионов, 2005). Более того, описанная двухэтапность клеточной защитной реакции pulmonat аналогична воспалительной реакции млекопитающих, у которых патоген вначале также вызывает воспалительный процесс, а позднее в реакцию вовлекаются форменные элементы, образованные в результате активации гемопоэтических структур.

Как уже упоминалось, гемоциты моллюсков, чувствительных и резистентных к трематодной инвазии линий *B. glabrata*, отличаются по способности к участию в инкапсуляции проникающего во внутреннюю среду паразита (Lie, Heuneman, 1976). Инкапсуляция подразумевает тесный контакт гемоцитов между собой и с поверхностью паразита. Такое взаимодействие предполагает участие в иммунном ответе молекул адгезии. При этом различия между улитками чувствительной и резистентной линий могут быть связаны с разным репертуаром молекул адгезии.

Второй тип реакций заключается в образовании **агглютинаций**. В специфических паразито-хозяинных системах инкапсуляции трематод в результате вторичной реакции не происходит, несмотря на выраженную активацию гемопоэза и повышение адгезионной способности вновь формируемых гемоцитов. Последние обнаруживают партенит

и могут образовывать крупные агглютинации в районе их локализации, иногда даже на поверхности спороцист. Однако инкапсуляции не происходит, и паразиты продолжают нормально развиваться, несмотря на такое соседство. В дальнейшем подобные агглютинации разбираются, и внешних проявлений клеточных реакций на трематодную инвазию не наблюдается, хотя в гемолимфе зараженного моллюска отмечается повышенное количество гемоцитов по сравнению с интактными животными.

Третий тип – образование **гемоцитарной мантии** вокруг паразита в результате извращения защитной клеточной реакции хозяина на паразитирование партенит трематод. Последние оказываются изолированными от окружающих тканей хозяина, однако не подвергаются воздействиям иммунной системы, а скорее, наоборот, находятся под ее защитой. Изначально такое образование было описано у спороцист отряда Plagiorchiata (Schell, 1965; Добровольский, Райхель, 1973). Однако в настоящее время предлагается расширить применение термина «мантия» на все случаи гемоцитарной изоляции трематод, при которой паразит не только не погибает, но и способен завершить свое развитие. Остальные отличия характеризуют частные случаи адаптаций трематод к паразитизму и не меняют общей картины взаимоотношений, складывающихся у них с моллюском-хозяином. Мантия обычно покрывает все тело паразита. При этом у него сохраняется возможность использовать ресурсы хозяина. Однако она может и прерываться в определенных участках. Такой пример демонстрируют спороцисты рода *Leucochloridium*, вокруг зрелых отростков которых образуется сплошная мантия, но в районе центральной части столона (предположительно выполняющей репродуктивную и трофическую функции) она представлена крупноячейистой сетью из гемоцитов (Ataev et al., 2013; Токмакова, 2018).

Сочетание первичной и вторичной клеточных защитных реакций хорошо иллюстрируется динамикой иммунного ответа биомфалирий на заражение трематодами рода *Echinostoma*. Мирацидии *E. caproni* после проникновения в моллюска *Biomphalaria glabrata* в течение нескольких часов остаются вблизи от места пенетрации. Это время (период покоя) необходимо им для метаморфоза в материнскую спороцисту. Только после его завершения спороцисты мигрируют к сердцу хозяина, где происходит их дальнейшее развитие (Ataev et al., 1997).

В улитках резистентной линии партениты могут быть инкапсулированы уже в начале заражения (в результате первичной клеточной реакции) – до начала миграции (Ataev, Coustau, 1999). Тем не менее, большинство спороцист покидают район начальной локализации и устремляются к сердцу. Именно здесь и происходит их инкапсуляция силами вторичной гемоцитарной реакции, вероятно, с участием клеток, сформировавшихся после активации гемопоэтических структур.

Внешне похожие результаты были получены при изучении заражения *B. glabrata* мирацидиями *Echinostoma lindoense* (Lie, Heupeman, 1975). При инвазии лишь небольшой процент моллюсков проявил резистентность. В остальных улитках спороцисты мигрировали в сердце, но затем инкапсулировались и разрушались в течение 2–5 дней. Более того, при повторной инвазии элиминация партенит происходила намного быстрее. Они даже не успевали достигнуть сердца и подвергались инкапсуляции в месте пенетрации. Авторы пришли к выводу, что повышение устойчивости связано с увеличением количества гемоцитов, образуемых в результате активации гемопоэтических органов моллюсков-хозяев. Они описали это явление как пример личиночного

антагонизма (см. выше). Вероятно, материнские спороцисты способны преодолеть первичную клеточную реакцию, но через несколько дней после завершения миграции инкапсулируются в результате развития вторичной реакции. При повторном заражении партениты уже в начале развития (период покоя) сталкиваются с защитной реакцией предварительно иммунизированного моллюска. Позднее сходные данные были получены для биомфалирий, зараженных трематодами *E. caproni* (Ataev, Coustau, 1999).

Таким образом, в процессе эволюции клеточного иммунитета моллюсков защитный барьер, представленный на начальном этапе фагоцитозом бактерий и прочих корпускулярных патогенов циркулирующими клетками, дополнился сложным комплексом последовательных клеточных реакций, направленных на изоляцию и уничтожение чужеродного. Это приобретение в полной мере реализуется и в отношении партенит трематод. Вероятно, фагоцитарная активность как самодостаточная клеточная реакция реализуется только в отношении микропатогенов. Однако в случае трематодной инвазии фагоцитоз может сопровождать каждый этап реализации защитной реакции, но особенно его проявление заметно на заключительных этапах – при ликвидации тканей паразита и клеточного дебриса, представленного, в том числе, остатками гемоцитарных капсул.

Гемопозз

Несмотря на интенсивные исследования морфологии и функциональной активности гемоцитов, до сих пор отсутствует общепринятая гипотеза о природе и механизме гемопозза легочных моллюсков. Многие авторы признают наличие единого центра гемопозза – амебоцито-продуцирующего органа (АПО), который расположен между перикардиальным и мантийным эпителиями (Pan, 1958; Lie et al., 1975; Jeong et al., 1983; Joky et al., 1983; Sullivan, 1988; Атаев, Прохорова, 2013). В то же время другие исследователи настаивают на полицентричности происхождения гемоцитов, допуская, что они могут образовываться из клеток соединительной ткани моллюсков (Souza, Andrade, 2006). Существует и третья гипотеза, допускающая пролиферацию циркулирующих клеток гемолимфы улиток (Sminia et al., 1983; Monteil, Matricon-Gondran, 1991; Portet et al., 2019).

Наиболее детально АПО изучен для *Biomphalaria glabrata*, у которых он располагается между передней стенкой перикарда и мантийным эпителием (Lie et al., 1975; Pan, 1965; Jeong et al., 1983; Joky, Matricon-Condran, 1985; Sullivan, 1988; Атаев, Прохорова, 2013 и др.) и состоит из небольших скоплений клеток – «узлов» (рис. 4). Для клеток, входящих в их состав, характерны удлинённая форма, базофильная цитоплазма и ядра овальной формы. Кроме того, на базальной мембране перикардиального эпителия некоторые авторы отмечают наличие небольших митотически активных клеток, которые, согласно гистохимическим и ультраструктурным исследованиям, являются предшественниками гемоцитов (Lie et al., 1975; Jeong et al., 1983; Sullivan, 1988; Горышина, Чага, 1990; Токмакова, 2018).

Орган, гомологичный АПО и ответственный за образование амебоцитов, был обнаружен и у ряда других pulmonat: *Lymnaea truncatula* и *L. palustris* (Rondelaud, Barthe, 1981), *L. stagnalis*, (Sminia, 1974), *Biomphalaria tenagophila* (Oliveira et al., 2010), *B. obstructa*, *Helisoma trivolvis*, *Physa virgata* (Sullivan, 1988), *Planorbarius corneus* (Ottaviani, 2006); *Bulinus africanus*, *B. truncatus* и *B. tropicus* (Kinoti, 1971), *Succinea putris* (Токмакова, 2018).

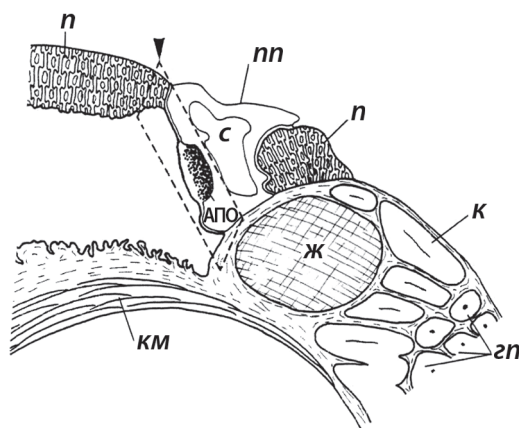


Рисунок 4. Локализация амебоцито-продуцирующего органа *Biomphalaria glabrata*.

АПО – амебоцито-продуцирующий орган, zn – гепатопанкреас, ж – желудок, к – кишка, км – колумеллярная мышца, mn – мантийная полость, n – почка, nn – перикардальная полость, с – сердце. (По: Joky, 1982 с изменениями).

Figure 4. Localization of amoebocyte-producing organ of *Biomphalaria glabrata*.

АПО – amoebocyte-producing organ, zn – hepatopancreas, ж – stomach, к – intestine, км – columellar muscle, mn – mantle cavity, n – kidney, nn – pericardial cavity, с – heart.

При заражении моллюсков мирацидиями трематод в АПО происходят структурные изменения: в «узелках» обнаруживаются многочисленные митозы, в результате чего увеличивается общее количество клеток, входящих в состав АПО. В дальнейшем узелки сливаются, образуя единый клеточный тяж (гипертрофия и гиперплазия АПО) (Lie et al., 1976; Jeong et al., 1983; Joky, 1985; Атаев, Полевщиков, 2004; Атаев, Прохорова, 2013; Токмакова, 2018). В дальнейшем прогемоциты дифференцируются в гемоциты и покидают АПО, проникая в синусы кровеносной системы. Обычно максимальная активация АПО и образование клеточного тяжа отмечается на третьи сутки после заражения. Это, в свою очередь, вызывает повышение количества гемоцитов в гемолимфе. В дальнейшем активность органа снижается и примерно на седьмой день АПО возвращается к обычному состоянию.

Однако не только трематоды вызывают активизацию гемопоэтических органов моллюсков. Иммунизация различными чужеродными веществами, включая экскреторно-секреторные продукты трематод, трансплантаты, липополисахариды (ЛПС) *E. coli* или фукоидан, также стимулирует пролиферацию клеток в АПО (Noda, 1992; Sullivan et al., 2004; Salamat, Sullivan, 2009; Sullivan et al., 2011, 2014; Zhang et al., 2016). В то же время такие вещества, как изотонический солевой раствор, суспензия живых грамположительных или грамотрицательных бактерий, некоторые лектины, зимозан, бычий сывороточный альбумин, не оказывают заметного влияния на АПО (Sullivan et al., 2004).

Для доказательства гемопоэтической роли АПО были проведены исследования по трансплантации этого органа. Так, после пересадки гетеротопических аллотрансплантатов передней стенки перикарда у моллюсков *Biomphalaria glabrata* было показано наличие кроветворной деятельности пересаженных участков АПО. В результате гистологического исследования было установлено, что все трансплантаты оказались

жизнеспособными, и признаков их отторжения не наблюдалось (Sullivan, 1990; Sullivan et al., 1998). При трансплантации АПО от моллюсков, резистентных по отношению к *Schistosoma mansoni*, моллюскам чувствительной линии, последним передается устойчивость к трематодной инвазии, что сопровождается повышением способности к инкапсуляции спорозист паразита (Sullivan, Spence, 1999; Vasquez, Sullivan, 2001; Barbosa et al., 2006). Однако приобретенная резистентность может быть обусловлена различными растворимыми факторами, перенесенными трансплантированными клетками, или путем секреции молекул, которые, в свою очередь, стимулируют реципиента к продуцированию собственных факторов устойчивости. Данные молекулы может синтезировать как сам трансплантат, так и гемоциты (Vasquez, Sullivan, 2001).

На сегодняшний день остаются нерешенными вопросы о природе и источнике факторов, вызывающих активацию АПО, пролиферацию предшественников гемоцитов и запуск защитных реакций моллюсков после проникновения патогена. Возможно, эндогенные факторы, индуцирующие клеточную пролиферацию и дифференцировку, вырабатываются циркулирующими гемоцитами и (или) клетками в составе АПО (Sullivan et al., 2004; Pila et al., 2016a; Zhang et al., 2016).

ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ

Эволюционно гуморальные реакции являются вторичными по отношению к клеточным, так как их появление подразумевает наличие сформированной внутренней среды организма. Становление гуморальных реакций, как правило, предусматривает наличие циркуляторных систем и связанных с ними клеточных элементов, вовлеченных в защитные реакции, а также существование кооперативных взаимодействий между циркулирующими клетками и клетками других органов (см. Атаев и др., 2005a).

Гуморальные компоненты гемолимфы, многие из которых могут функционировать как в составе рецепторных комплексов, так и в виде секретируемых в плазму молекул, обеспечивают распознавание чужеродного, активацию гемоцитов, опсонизацию патогенов (повышающую эффективность фагоцитоза), антибактериальный эффект, регуляцию иммунных реакций, обладают агглютинирующей и литической активностями (Jourdan, Cheng, 1987; van der Knaap, Loker, 1990; Sullivan, Spence, 1999; Connors, 2003).

Например, дочерние спорозисты *Schistosoma mansoni* агглютинируются только в плазме резистентных моллюсков *Biomphalaria glabrata* (Bayne, Yoshino, 1989). Факторы гемолимфы резистентных особей, находящиеся в плазме, вызывают приводящую к гибели спорозист их инкапсуляцию гемоцитами моллюсков чувствительных линий (Granath et al., 1984; Connors, Yoshino, 1990; van der Knaap, Loker, 1990). Имеются данные, полученные *in vivo*, согласно которым роль гуморальных факторов в процессе гибели партенит трематод является основной. Так, дегенерация материнских спорозист *Echinostoma lindoense* в моллюсках *Biomphalaria glabrata* вообще может протекать без предварительной инкапсуляции (Lie, Heyneman, 1976b).

В последние годы все больше подтверждается значимость гуморальных факторов в формировании специфичности иммунитета pulmonat. Именно гуморальным факторам приписывается основная роль в формировании так называемого иммунного праймирования и тренированного иммунитета («индуцированной резистентности»), которые рассматриваются в качестве доказательства наличия иммунологической памяти у беспозвоночных (Coustau et al., 2016; Netea et al., 2016; Gourbal et al., 2018; Melillo et al., 2018).

Участие гуморальных факторов в распознавании чужеродного

Ранее отмечалось, что в процессе распознавания чужеродных объектов принимают участие лектины. К ним относятся белки или гликопротеины, обладающие сайтами олигосахаридного связывания и способные агглютинировать или преципитировать гликоконъюгаты, локализованные на клеточных поверхностях. В гемолимфе моллюсков выявлен целый спектр углевод-связывающих (лектиновых) веществ (Купер, 1980; Glinski, Jarosz, 1997; Vasta et al., 2015).

Установлено, что лектины *Biomphalaria glabrata* являются агглютинидами в отношении спороцист *Schistosoma mansoni* и, более того, оказывают на них цитотоксическое воздействие (Bayne et al., 1985). Заражение моллюсков трематодами *Echinostoma paraensei* приводит к сильному повышению концентрации лектинов в плазме гемолимфы (Adema et al., 1997a).

Среди многообразия лектинов наиболее значимыми в иммунном ответе считаются Ca^{2+} -зависимые лектины С-типа, обладающие высоким уровнем полиморфизма (Pees et al., 2016). С-лектины (C-type lectin-related proteins, CREPs) экспрессируются в гемоцитах, в белковой железе и гепатопанкреасе pulmonat (Guillou et al., 2007; Ataev et al., 2016) и чаще всего играют роль растворимых рецепторов и опсоинов (Renwrtantz, 1986; Adema, Loker, 2015).

Избирательность связывания лектинов с чужеродным установлена при изучении патогенсвязывающей способности белков плазмы *Biomphalaria glabrata*. Показано наличие в ней трех групп свободных лектинов С-типа. При этом они преимущественно связывались с поверхностью бактерий (*Micrococcus luteus*, *E. coli*) и клеток дрожжей, но не осаждались на поверхности мирацидиев трематод *Echinostoma caproni* и *Schistosoma mansoni* (Tetreau et al., 2017). Другие лектины, например, фибриногенподобные белки (см. ниже), связываются с поверхностью спороцист трематод *S. mansoni* (Hokke et al., 2007; Peterson et al., 2009). Кроме этого, именно под лектины мимикрируют поверхностные гликаны трематод, обеспечивающих себе таким образом молекулярную мимикрию.

Другая группа лектинов pulmonat – галектины (galectin-related proteins, GREPs) – активно экспрессируются у моллюсков *Biomphalaria glabrata* резистентной и чувствительной линий, зараженных *Schistosoma mansoni* и *Echinostoma paraensei* (Hanington et al., 2010a; Adema et al., 2010). Считается, что основная функция галектинов заключается в усилении адгезии гемоцитов на поверхности спороцист трематод (Yoshino et al., 2008).

Лектины, подобные компоненту комплемента C1q, активнее транскрибируются у зараженных трематодами *Echinostoma paraensei* и *Schistosoma mansoni* биомфалирий чувствительных линий (Adema et al., 2010). C1q-подобные лектины могут взаимодействовать с фукозными остатками поверхности тегумента спороцист и усиливать адгезию на них гемоцитов (Castillo et al., 2007).

Особую группу лектинов составляют фибриногенподобные белки (fibrinogen-related proteins, FREPs). Они были отнесены к лектинам по способности связывать углеводные эпитопы. Однако их молекулярная структура настолько уникальна, что их можно рассматривать как отдельную группу PRR (Adema et al., 1997).

FREP имеют уникальную доменную организацию. На N-конце полипептида находятся один или два варибельных иммуноглобулиноподобных домена (immunoglobulin-

superfamily like domain, IGSF), а на С-конце – фибриногеновый домен (fibrinogen-like domain, FBG) (Doolittle, 1992; Kurosava, Hashimoto, 1996; Adema et al., 1997) (рис. 5А).

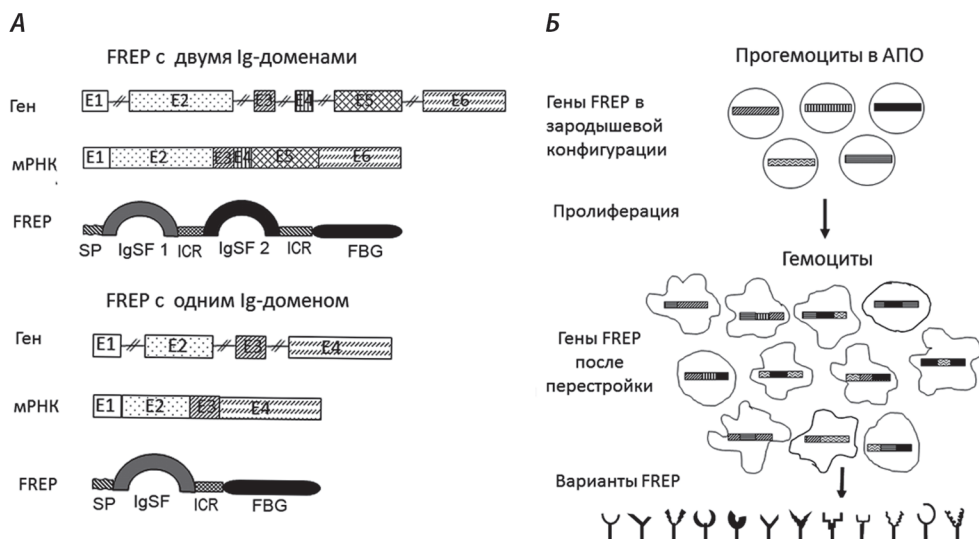


Рисунок 5. Фибриногенподобные белки (FREP). *А* – организация геномных локусов и доменная структура фибриногенподобных белков. E1–E6 – экзоны, SP – сигнальный белок, IgSF – домен иммуноглобулинового суперсемейства, FBG – фибриногеновый домен, ICR – промежуточный участок. *Б* – схема формирования разнообразия FREP в онтогенезе моллюска (пояснения в тексте).

Figure 5. Fibrinogen-like proteins (FREP). *A* – organization of genomic loci and domain structure of fibrinogen-like proteins. E1 – E6 – exons, SP – signaling protein, IgSF – domain of the immunoglobulin superfamily, FBG – fibrinogen domain, ICR – intermediate region. *B* – scheme of the formation of the FREP diversity in the ontogeny of the mollusc (see text for explanations).

Фибриногеновый домен – наиболее консервативная часть молекул FREP. Гомология фибриногеновых доменов, относящихся к разным группам FREP, составляет не менее 72 % (Dheilly et al., 2015). Принято считать, что фибриногеновый домен не участвует в реакциях коагуляции гемолимфы, а основная его функция – облегчение кальций-зависимого связывания лектинов с углеводами (Adema et al., 1999). Одним из примеров фибриногенподобных белков, имеющих сайт связывания с ионами кальция, является селектин, вовлеченный в процессы адгезии у моллюсков *Biomphalaria glabrata* (Guillou et al., 2004).

Для иммуноглобулиновых доменов FREP характерна крайняя вариабельность, которая была выявлена с помощью транскриптомного анализа (Dheilly et al., 2015). В настоящее время на основании изучения структуры иммуноглобулинового домена выделено как минимум 14 подсемейств FREPs моллюска *B. glabrata* (Loker et al., 2004; Gordy et al., 2015; Galinier et al., 2017). У отдельных особей этого вида выявляется от 36 до 45 различных вариантов мРНК FREP3 (Zhang et al., 2004), которые соответствуют 31 и 36 вариантам аминокислотных последовательностей. Репертуар FREP также меняется по мере роста моллюска и после заражения трематодами разных видов (Hanington et al., 2010a, b, 2012; Gordy et al., 2015).

По разным оценкам фибриногенподобные белки биомфаларии кодируются в 1–9 геномных локусах (Gordy et al., 2015). Однако разнообразие FREP не ограничивается только генотипически определенным ресурсом. В частности, для нескольких FREP3 доказана индивидуальная вариабельность, источником которой может быть не только аллельный полиморфизм, но и соматическая диверсификация генов (Zhang et al., 2004; Hanington et al., 2010b). В качестве источников разнообразия рассматривают точечные мутации (Zhang et al., 2004, 2008; Mone et al., 2010; Dheilly et al., 2015) и альтернативный сплайсинг (Zhang, Loker, 2004).

Получены данные, свидетельствующие о существовании механизма соматического мутагенеза в генах, кодирующих FREP. Гены FREP кластеризованы: 4 гена FREP (FREP14 и три члена семейства FREP3) находятся в пределах геномной области 70 000 пн. Именно такая конфигурация генов часто ассоциируется с соматическим мутагенезом в этих участках (Chen et al., 2007; Hanington et al., 2010b). Кроме того, у *B. glabrata* выявлены нуклеотидные последовательности, кодирующие цитидиновую дезаминазу (один из основных ферментов, обеспечивающих процесс соматического гипермутагенеза), экспрессия которого повышается у моллюсков, зараженных трематодами (Bouchut et al., 2006).

Возможность соматического гипермутагенеза заложена и в механизме гемопоэза pulmonat. В основном FREP экспрессируются в гемоцитах моллюсков (Adema et al., 1997; Hanington et al., 2010a, b). Предполагается, что случайные соматические мутации могут возникать во время пролиферации и клеточной дифференцировки в гемопоэтических структурах, что изменяет зародышевое состояние генов в некоторых гемоцитах. В результате часть гемоцитов содержат гены FREP не в зародышевой конфигурации, а включают уникальные мутации (Hanington et al., 2010a, b). Так как в онтогенезе улитки происходит обновление пула гемоцитов, то и репертуар FREP, экспрессируемых в этих клетках, также меняется (рис. 5Б). Эта закономерность показана экспериментально: транскрипты пулов из 20–40 гемоцитов *B. glabrata* содержат различные наборы модифицированных последовательностей FREP (Hanington et al., 2010a, b). Стимуляция патогеном может усиливать гемопоэз у *B. glabrata*, в результате чего усиливается процесс мутагенеза и разнообразие FREP (Hanington et al., 2012; Adema, Loker 2015). Соответственно, у моллюсков репертуар патоген-распознающих молекул не ограничивается только генотипически определенным ресурсом. При этом ранее онтогенетическая изменчивость патогенраспознающих молекул считалась прерогативой только позвоночных животных (Medzhitov, Janeway, 1997).

Структура кодирующих геномных локусов, соматическая диверсификация и признаки наличия гипермутагенеза, а также способность специфично распознавать патогены позволяют рассматривать FREP в качестве функциональных аналогов иммуноглобулинов позвоночных (Adema et al., 1997; Connors, 2003). Поэтому изучение разнообразия FREP является одним из основных направлений раскрытия механизмов возможной специфичности иммунитета pulmonat.

Впервые иммунологическая роль FREP была показана для моллюсков *B. glabrata* М-линии, у которых экспрессия генов FREP повышалась в три раза после заражения *Echinostoma paraensei* (Adema et al., 1997). В настоящее время установлено, что FREP – одна из самых обильно представленных фракций белков плазмы *Biomphalaria glabrata* (Wu et al., 2017). Было многократно подтверждено изменение экспрессии

генов FREP при заражении моллюсков трематодами (Hertel et al., 2005; Mitta et al., 2005; Hanington et al., 2010a, b).

У моллюсков резистентной и чувствительной линий выявлены конституционные различия в экспрессии фибриногенподобных белков (Mitta et al., 2005). Так, при заражении *B. glabrata* мирацидиями *Echinostoma paraensei* значительно усиливается транскрипция фибриногенподобных белков двух подсемейств (FREP2 и FREP4) у особей как резистентной, так и чувствительной линий.

В опытах с нокдауном генов FREP показано повышение восприимчивости *Biomphalaria glabrata* резистентных линий к заражению трематодами *Echinostoma paraensei* и *Schistosoma mansoni*. Это подтверждает, что FREP является одним из факторов, определяющих устойчивость моллюсков к заражению трематодами, а также указывает на роль FREP в формировании памяти (Jiang et al., 2006; Hanington et al., 2010a, 2012).

Кроме того, разные FREP обладают избирательной активностью в отношении патогенов: FREP2 плазмы зараженных моллюсков связывается преимущественно со спороцистами *Echinostoma paraensei*, а FREP3 – с бактериями и грибами (Zhang et al., 2008). Показана четкая зависимость между зараженностью моллюсков и уровнем экспрессии фибриногенподобных белков разных подсемейств (Guillou et al., 2004; Hertel et al., 2005; Jiang et al., 2006). Также имеются данные о специфичности экспрессии FREP при заражении трематодами разных видов. Так, у моллюсков *Planorbarius corneus* уровень экспрессии генов FREP различен у незараженных и зараженных разными видами трематод особей. При заражении улиток партенитами *Notocotylus* sp. и *Plagiorchis* sp. экспрессия FREP понижается, а у особей, зараженных *Cotylurus* sp. и *Bilharziella polonica*, экспрессия FREP выше, чем у незараженных (Прохорова и др., 2010).

ЭФФЕКТОРНЫЕ МОЛЕКУЛЫ ИММУНИТЕТА

После проникновения паразита в моллюска и его распознавания включаются эффекторные механизмы подавления инвазии. В реализации иммунных реакций моллюсков участвуют такие группы факторов, как протеазы, ингибиторы протеаз, компоненты комплемента, антибактериальные белки, токсины, активные кислородные метаболиты и др.

Протеазы участвуют в уничтожении патогенов, ферментативных каскадах, моделировании клеточного матрикса и передвижении иммунокомпетентных клеток в ткани. У пульмонат обнаружены как многочисленные протеазы (серпины, катепсин, эластаза, цинк-зависимая металлопротеаза, цистатины), так и их ингибиторы (ингибиторы сериновых и цистатиновых протеаз) (Cheng et al., 1978; Cheng, Dougherty, 1989). Заражение трематодами приводит к усилению экспрессии этих молекул у *Biomphalaria glabrata* (Mitta et al., 2005; Lockyer et al., 2012). В частности, показано усиление экспрессии цистатина в гемоцитах в составе капсул вокруг спороцист *Echinostoma caproni* (Guillou et al., 2007) и повышение выработки катепсина В, эластазы и цинковой металлопротеазы в гепатопанкреасе зараженных биомфаларий (Myers et al., 2008; Ittiprasert et al., 2010; Lockyer et al., 2012).

Кроме того, цистеиновые протеазы вырабатываются мирацидиями и молодыми материнскими спороцистами (Yoshino et al., 1993; Fryer et al., 1996). В частности, секреторный белок SmVAL (venom allergen-like protein) *Schistosoma mansoni* влияет на экспрессию белков внеклеточного матрикса гемоцитами *Biomphalaria glabrata* (Yoshino et al., 2014).

Другая группа эффекторных белков, обладающих выраженным антипатогенным свойством – антибактериальные белки. Они участвуют в элиминации фагоцитированных патогенов, а также в процессах внеклеточной цитотоксичности.

У пульмонат описано несколько антимикробных пептидов. Для белка митамацина (mytimacin, или lipopolysaccharide-binding protein/bactericidal permeability increasing, LBP/BPI), вырабатываемого клетками белой железы, показана антибактериальная и противогрибковая активность (Guillou et al., 2007; Baron et al., 2016; Adema et al., 2017), а также повышение экспрессии при заражении моллюсков партенитами эхиностом (Guillou et al., 2007; Hanington et al., 2010a). Другой антимикробный белок – MPEG1 (macrophage expressed gene-1), относящийся к суперсемейству перфоринов, вырабатывается гемоцитами резистентных биомфалирий, зараженных трематодами *Schistosoma mansoni* (Ittiprasert et al., 2010).

Несколько лет назад был открыт белок биомфализин (biomphalysin), который в настоящее время рассматривается в качестве одного из определяющих факторов резистентности у моллюсков (Galinier et al., 2013; Li et al., 2020). Биомфализин – аэролизинподобный белок, формирующий поры токсин, секретируемый в плазму. Предположительно биомфализин достался моллюскам от бактерий в результате горизонтального переноса генов (Galinier et al., 2013). Белок включает два домена – домен, подобный формирующему β -поры токсину (β -pore-forming toxins), способный встраиваться и перфорируют клеточные мембраны, и малый домен, вовлеченный в распознавание углеводных RAMP. Биомфализины способны связываться с поверхностью спорозист *S. mansoni*. При этом белки плазмы гемолимфы значительно усиливают их активность (Galinier et al., 2013). *In vitro* показана его способность к взаимодействию как с бактериями и дрожжами, так и с трематодами *S. mansoni* и *Echinostoma caproni* (Tetreau et al., 2017). Показана способность биомфализинов формировать комплексы с FREP и тиоэфир-содержащим белком (Li et al., 2020).

Конститутивно в гемоцитах биомфализины экспрессируются в небольшом количестве (Galinier et al., 2013). У особей, зараженных *S. mansoni* формируются многочисленные варианты транскриптов биомфализина (Pinaud et al., 2019). Выработка того или иного варианта зависит от природы (особенностей) паразита. При этом часть транскриптов перестает вырабатываться, выполнив свою задачу, а часть продолжает экспрессироваться. Поэтому биомфализин рассматривают в качестве одного из компонентов так называемой гуморальной иммунной памяти (Portela et al., 2013; Pinaud et al., 2016).

Недавно в геноме *Biomphalaria glabrata* было выявлено пять генов, кодирующих порообразующие белки, отличающиеся от биомфализина. Новое семейство токсинов было названо глабрализинами (glabralysins). Для одних глабрализинов показано повышение экспрессии при заражении трематодами *Schistosoma mansoni*, для других – при иммунизации бактериями (Lassalle et al., 2020).

Путем *in silico* анализа в транскриптоме биомфалирий также выявлены мРНК, схожие с теромацином (theromacin), ахацином (achacin) из моллюсков *Achatina fulica*, аплизанином (aplysianin) из *Aplysia kurodai* и несколько биомфамицинов (biomphamacins) – богатых цистином катионных пептидов. Для всех факторов показано повышение экспрессии в ответ на иммунизацию бактериями (Mitta et al., 2005; Adema et al., 2017).

Одной из основных составляющих гуморального иммунитета является система комплемента. Однако для большинства беспозвоночных в настоящее время описаны лишь отдельные ее компоненты (Кокряков, 2006). Анализ транскриптомов и протеомов

гемоцитов биомфаларий показал наличие C1q-подобного белка и тиозфир-содержащего белка (thioester-containing protein, TEP) (Pinaud et al., 2019). TEP – комплементоподобные молекулы, которые исполняют роль опсоинов, стимулируя фагоцитоз или лизис клеток. Для моллюсков доказана роль TEP в фагоцитозе микроорганизмов и антипаразитарном ответе (Blandin, Levashina, 2004). TEP участвуют в формировании капсул вокруг спорозист трематод у *Biomphalaria glabrata* при первичной иммунизации (Mone et al., 2010; Mitta et al., 2012; Portet et al., 2018). При повторном заражении, сопровождающемся сдвигом в сторону гуморального иммунитета, происходит снижение экспрессии TEP и C1q-подобного белка (Pinaud et al., 2016, 2019).

Активные метаболиты молекулярного кислорода и азота (reactive oxygen species, ROS и reactive nitrogen species, RNS) являются важнейшими факторами иммунной защиты моллюсков. В процессе фагоцитоза они обеспечивают деструкцию клеточных мембран паразита.

Основное количество кислородных метаболитов образуется при активации медь-содержащих фенолоксидаз, проявляющих тиразидазную активность. Фенолоксидаза является купроэнзимом, который демонстрирует субстратную специфичность к моно- и дифенолам. Она является одним из основных медьсодержащих ферментов гемолимфы моллюсков, однако этот фермент также был обнаружен в других органах моллюсков (Бабич и др., 2017). Считается, что при реализации иммунного ответа (в том числе при инкапсуляции патогена) именно гемоциты секретируют фенолоксидазу. Однако на сегодняшний день, не известно являются ли они единственным ее источником. Поскольку фенолоксидаза является медь-содержащим ферментом, можно предположить существенную роль меди в реализации защитных функций гемоцитов в иммунном ответе. Механизмы поддержания гомеостаза меди в межклеточных пространствах появляются только у многоклеточных, и они мало изучены. Скорее всего, существуют значительные различия этих механизмов между животными (водные, сухопутные, с замкнутой и незамкнутой системой кровообращения, животные с разным уровнем развития органов, в биосистеме «паразит–хозяин» и др.). Отсутствие данных о внутриклеточном и межорганном обмене меди у моллюсков препятствует пониманию одной из важнейших сторон физиологии врожденного иммунитета – роли гомеостаза меди в формировании «дыхательного взрыва» и меланизации.

Исследования *in vitro* показали, что H_2O_2 и NO способствуют уничтожению спорозист *Schistosoma mansoni* гемоцитами *Biomphalaria glabrata* резистентной линии. При этом резистентные улитки генерируют больше ROS и RNS, чем чувствительные особи (Hahn et al., 2001; Mone et al., 2010). Для них показана конститутивно более интенсивная экспрессия Cu/Zn супероксиддисмутазы (CuZn SOD) (Bonner et al., 2012). При этом аллель гена SOD1 рассматривается как специфический маркер для выявления специфической резистентности у *B. glabrata* к инвазии *Schistosoma mansoni* (Coustau et al., 2015).

Продукция супероксиданиона ($O_2^{\cdot-}$) установлена для гемоцитов *Lymnaea stagnalis* и *Helix aspersa* при фагоцитозе частиц зимозана. Аналогичные результаты показал анализ гемоцитов чувствительных и резистентных линий *Lymnaea stagnalis* к заражению *Trichobilharzia ocellata* (Dikkeboom et al., 1988). При инвазии *Lymnaea stagnalis* специфическим паразитом *Trichobilharzia ocellata* и неспецифическим *Schistosoma mansoni* гемоциты моллюска отвечают продукцией активных форм кислорода в ответ на неспецифического паразита, вызывают его гибель и не отвечают на специфического,

что обеспечивает выживание последнего. Материнские спороцисты обоих видов активируют внутриклеточную ксантин-оксидазную систему, что приводит к образованию высокотоксичных перекисных соединений. Применение ингибитора НАДФН-оксидазы задерживает элиминацию спороцист *Trichobilharzia ocellata* и *Schistosoma mansoni* гемоцитами резистентных к инвазии *Lymnaea stagnalis* и *Biomphalaria glabrata*, соответственно (Dikkeboom et al., 1988; Adema et al., 1994, 2001). Для *Viciparus ater* показана способность гемоцитов к синтезу NO с помощью ключевого фермента – НАДФН-зависимой нитритной окись-синтазы. Стимуляция клеток ЛПС увеличивает активность этого фермента и продукцию NO в 2.4 раза (Conte, Ottaviani, 1995).

Трематоды имеют защитные системы, препятствующие их повреждению ROS и RNS. Во время трансформации мирацидия в материнскую спороцисту вырабатывается целый ряд антиоксидантных ферментов – глутатион-S-трансфераза (GST), Cu/Zn супероксиддисмутаза (SOD), глутатион пероксидаза (GPx) и пероксиредоксины (Prx), обеспечивающие защиту развивающегося паразита (Guillou et al., 2007).

РЕГУЛЯТОРЫ ИММУННОГО ОТВЕТА МОЛЛЮСКОВ

Основными регуляторами иммунного ответа животных являются небольшие пептиды – цитокины (см.: Атаев и др., 2005б; Mitta et al., 2005; Garcia et al., 2010). Цитокины участвуют как в регуляции иммунного ответа, так и в поддержании тканевого гомеостаза.

У легочных моллюсков выявлены такие универсальные цитокины, как фактор некроза опухолей (TNF-related protein), макрофагальный ингибирующий фактор, цистатин. Кроме того, описаны некоторые белки, вовлеченные в сигнальные каскады активации клеток – белки, содержащие цинковые пальцы (zinc-finger proteins), кальмодулин, тимозин В4 (Yoshino et al., 1993; Bayne et al., 2001).

Одним из наиболее хорошо охарактеризованных цитокинов пульмонат является фактор, ингибирующий миграцию макрофагов (macrophage migration inhibitory factor, MIF) (Mitta et al., 2005). MIF экспрессируется в циркулирующих гемоцитах (преимущественно гранулоцитах) и эмбриональных клетках *Biomphalaria glabrata* (Bge cells). Показано его присутствие в плазме гемолимфы (Garcia et al., 2010). Он способен стимулировать клеточную пролиферацию и ингибировать NO-зависимый р53-опосредованный апоптоз Bge-клеток. Заражение *Schistosoma mansoni* приводит к снижению экспрессии MIF, которое коррелирует с миграцией гемоцитов к инфицированным трематодами тканям. Нокдаун гена MIF приводит к нарушению инкапсуляции спороцист *S. mansoni* в культуре Bge-клеток (Garcia et al., 2010). Консервативность гена MIF позволяет рассматривать его в качестве ортолога MIF млекопитающих.

Помимо MIF в транскриптом *Biomphalaria glabrata* обнаружены последовательности, гомологичные воспалительным факторам трансплантации млекопитающих (mammalian allograft inflammatory factors, AIF). AIF млекопитающих экспрессируются при отторжении аллотрансплантатов и участвуют в регуляции воспаления (Deininger et al., 2002). У биомфалирий резистентной линии показано пятикратное повышение экспрессии AIF (Mitta et al., 2005).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненный анализ информации об иммунном ответе пульмонат на чужеродные факторы позволяет рассматривать основные этапы его реализации как аналогичные соответствующим реакциям других животных. В частности, защитные реакции пульмонат

включают два уровня: клеточный и гуморальный. Однако не всегда просто провести четкое разграничение их функциональных компетенций. Так, гемоциты моллюсков, способные к фагоцитозу и инкапсуляции патогена, используют при этом различные факторы гуморального иммунитета для распознавания и элиминации чужеродного.

С другой стороны, в рамках рассматриваемой паразито-хозяинной системы большой интерес представляют реакции трематод на комплекс защитных барьеров моллюска. Анализ полученных результатов позволяет заключить, что выявленная иммунная устойчивость pulmonat к трематодной инвазии полностью укладываются в общие представления об адаптивных реакциях паразита на иммунный ответ хозяина. Способность партенит трематод избегать защитных реакций моллюска-хозяина указывает на длительную историю становления данной паразито-хозяинной системы.

Существует несколько основных гипотез, объясняющих механизмы избегания партенитами трематод иммунных реакций моллюсков. Основной из них является **«модель совместимого молекулярного полиморфизма»**. Для моллюска характерен определенный набор клеточных и гуморальных компонентов иммунитета, заданных генотипически. Резистентные моллюски отличаются от чувствительных по набору и уровню экспрессии распознающих молекул, факторов цитотоксичности, адгезии и др. Для паразита конкретного вида (или штамма) также характерен генотипически заданный набор антигенных детерминант (рецепторы поверхности тегумента, экскреторно-секреторные продукты, продукты метаболизма). Способность моллюска распознавать патоген, реагировать на него, а с другой стороны, способность паразита избегать этого ответа определяют совместимость конкретной паразито-хозяинной системы.

Для объяснения явления «молекулярного полиморфизма» были предложены альтернативные гипотезы. Первая заключается в том, что совместимость определяется степенью резистентности моллюска (Webster, Davies, 2001). Согласно второй, успешность заражения определяется совпадением индивидуальных молекулярных характеристик паразита и хозяина (Theron, Coustau, 2005). В то же время Митта с коллегами (Mitta et al., 2017) допускают, что эти гипотезы не являются взаимоисключающими и что совместимый статус конкретной улитки и трематоды определяется балансом между несколькими молекулярными детерминантами, относящимися к двум категориям: первая – врожденные генетические особенности паразита и хозяина, вторая – молекулы (рецепторы и антигены), обладающие полиморфизмом (например, FREP). Поэтому чувствительность и резистентность не бывают абсолютными.

Гипотеза молекулярной мимикрии подразумевает экспрессию паразитом поверхностных молекул, опознаваемых внутренними защитными системами хозяина как «свое» (Damian, 1989). Показано, что разные уровни восприимчивости хозяина коррелируют с различным содержанием поверхностных антигенов паразита (van der Knaap, Loker, 1990).

Согласно **гипотезе молекулярной маскировки**, выживание паразита обеспечивается осаждением на его поверхности молекул гемолимфы хозяина. В основе этого явления могут лежать как пассивная сорбция молекул гемолимфы, так и их активный захват посредством специальных рецепторов на поверхности паразита (van der Knaap, Loker, 1990). Например, трематоды *Schistosoma mansoni* экспрессируют на своей поверхности полиморфные муцины (polymorphic mucins, SmPoMucs), которые предотвращают распознавание иммунной системой моллюсков чужеродного.

Согласно четвертой гипотезе, выживаемость паразита основана на **ингибировании процессов иммунного ответа хозяина**. Это происходит с участием экскреторно-секреторных продуктов, выделяемых паразитом (Loker et al., 1992; Lodes, Yoshino, 1990). В частности, экскреторно-секреторные продукты способны изменять профиль экспрессии белков гемоцитами, что может препятствовать распознаванию патогена иммунной системой моллюска (Yoshino et al., 2013).

В завершение настоящего обзора коротко затронем явление специфичности моллюсков к трематодной инвазии. В условиях постоянного взаимодействия с чужеродными антигенами их резистентность к паразиту является скорее правилом, а восприимчивость – исключением. Поэтому успешность заражения зависит, прежде всего, от способности паразита «избегать» защитных реакций хозяина или подавлять их. Моллюск обеспечивает среду обитания, которую паразит использует для развития и увеличения собственной численности. Для этого необходим тесный контакт между паразитом и хозяином, и несомненно, это взаимодействие распространяется на молекулярный диалог между ними, результатом которого, вероятно, является запуск и сила иммунного ответа улиток.

Однако до сих пор остается много вопросов относительно формирования явления специфичности и механизмов устойчивости паразито-хозяинных систем. Является ли давление, создаваемое трематодной инвазией, фактором, способствующим развитию специфичности в иммунных системах моллюсков, и служит ли такое приобретение движущей силой для формирования разнообразия трематод?

Учитывая сложившиеся в ходе коэволюции паразито-хозяинные системы, можно предположить, что трематоды оказали серьезное влияние на формирование иммунных реакций легочных моллюсков, включая степень их специфичности.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-54-15003 НЦНИ_а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Атаев Г.Л. 2017. Размножение партенит трематод. Обзор основных теорий. СПб, Наука, 88 с.
- Атаев Г.Л., Добровольский А.А. 1992. Развитие микрогемипопуляции редий *Philophthalmus rhionica* в моллюсках, природно-зараженных другими видами трематод. Паразитология 26 (3): 227–233.
- Атаев Г.Л., Полевщиков А.В. 2004. Защитные реакции брюхоногих моллюсков. 1. Клеточные реакции. Паразитология 38 (4): 342–351.
- Атаев Г.Л., Еремина Е.Е., Полевщиков А.В. 2005а. Защитные реакции брюхоногих моллюсков. Гуморальные реакции. Паразитология 39 (1): 3–15.
- Атаев Г.Л., Дьячков И.С., Полевщиков А.В. 2005б. Сравнительно-иммунологический анализ защитных реакций брюхоногих моллюсков. Известия РГПУ 5 (13): 265–281.
- Атаев Г.Л., Прохорова Е.Е. 2013. Изменения в амебоцито-продуцирующем органе моллюсков *Biomphalaria glabrata* при заражении трематодами *Echinostoma caproni*. Паразитология 47 (6): 472–479.
- Бабич П.С., Кудрявцева П.С., Орлов Ю.А., Атаев Г.Л. 2017. Изучение содержания меди в тканях моллюсков *Planorbarius corneus* и влияния трематодной инвазии на фенолоксидазную активность гемолимфы. Паразитология 51 (6): 490–498.
- Галактионов В.Г. 2005. Эволюционная иммунология. М., ИКЦ «Академкнига», 408 с.
- Горышина Е.Н., Чага О.Ю. 1990. Сравнительная гистология тканей внутренней среды с основами иммунологии. Л., Издательство ЛГУ, 320 с.

- Добровольский А.А., Райхель А.С. 1973. Жизненный цикл *Haplometra cylindracea* Zeder 1800 (Trematoda, Plagiorchiidae). Вестник Ленинградского университета 3: 5–13.
- Купер Э. 1980. Сравнительная иммунология. М., Мир, 422 с.
- Прохорова Е.Е., Цымбаленко Н.В., Атаев Г.Л. 2010. Экспрессия генов факторов защитных реакций у моллюсков *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata) при заражении трематодами. Паразитология 44 (4): 310–325.
- Прохорова Е.Е., Токмакова А.С., Атаев Г.Л. 2015. Реакция гемоцитов моллюсков *Planorbarius corneus* на ксенотрансплантат. Паразитология 49 (2): 128–132.
- Прохорова Е.Е., Серебрякова М.К., Токмакова А.С., Кудрявцев И.В., Усманова Р.Р., Атаев Г.Л. 2018. Анализ клеточного состава гемолимфы трех видов планорбид (Gastropoda: Pulmonata). Invertebrate Zoology 15 (1): 103–113.
- Кокряков В.Н. 2006. Очерки о врожденном иммунитете. СПб., Наука, 261 с.
- Токмакова А.С. 2018. Клеточные реакции легочных моллюсков на трематодную инвазию. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб, 22 с.
- Adamowicz A., Bolaczek M. 2003. Blood cells morphology of the snail helix *Aspersa maxima* (Helicidae). Zoologica Poloniae 48 (1–4): 93–101.
- Adema C.M., Harris R.A., van Deutekom-Mulder E.C. 1992. A comparative study of hemocytes from six different snails: morphology and functional aspects. Journal of Invertebrate Pathology 59 (1): 24–32.
- Adema C.M., Hertel L.A., Loker E.S. 1999. Evidence from two planorbid snails of a complex and dedicated response to digenean (Echinostome) infection. Parasitology 119 (4): 395–404.
- Adema C.M., Hertel L.A., Miller R.D., Loker E.S. 1997. A family of fibrinogen-related proteins that precipitates parasite-derived molecules is produced by an invertebrate after infection. PNAS 94 (16): 8691–8696.
- Adema C.M., van Deutekom-Mulder E.C., van der Knaap W.P., Sminia T. 1994. Schistosomicidal activities of *Lymnaea stagnalis* haemocytes: the role of oxygen radicals. Parasitology 109 (4): 479–485.
- Adema C.M., Sapp K.K., Hertel L.A., Loker E.S. 2001. Immunobiology of the relationship of echinostomes with snail intermediate hosts. In: Fried B., Graczyk T.K. (eds). Echinostomes as experimental models for biological research. Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publishers, 149–173.
- Adema C.M., Hanington P.C., Lun C.-M., Rosenberg G.H., Aragon A.D., Stout B.A., Richard M.L., Gross P.S., Loker E.S. 2010. Differential transcriptomic responses of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Mollusca) to bacteria and metazoan parasites, *Schistosoma mansoni* and *Echinostoma paraensei* (Digenaea, Platyhelminthes). Molecular Immunology 47 (4): 849–860.
- Adema C.M., Loker E.S. 2015. Digenean-gastropod host associations inform on aspects of specific immunity in snails. Developmental and Comparative Immunology 48 (2): 275–283.
- Adema C.M., Hillier L.W., Jones C.S., Loker E.S., Knight M., Minx P. et al. 2017. Whole genome analysis of a schistosomiasis-transmitting freshwater snail. Nature Communications 8 (15451): 1–11.
- Akira S., Uematsu S., Takeuchi O. 2006. Pathogen recognition and innate immunity. Cell 124 (4): 783–801.
- Anderson K.V., Bokla L., Nüssleinvolhard C. 1985. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: the induction of polarity by the toll gene product. Cell 42 (3): 791–798.
- Ataev G.L., Dobrovolskij A.A., Fournier A., Jourdan J. 1997. Migration and development of mother sporocysts of *Echinostoma caproni* (Digenea: Echinostomatidae). Journal of Parasitology 83 (3): 444–453.
- Ataev G.L., Babich P.S., Tokmakova A.S. 2013. The study of the sporocyst broodsacs coloring in *Leucochloridium paradoxum* (Trematoda: Brachylaemidae). Parasitologiya 47 (5): 372–379.
- Ataev G.L., Coustau C. 1999. Cellular response to *Echinostoma caproni* infection in *Biomphalaria glabrata* strains selected for susceptibility/resistance. Developmental and Comparative Immunology 23 (3): 187–198.
- Ataev G.L., Prokhorova E.E., Kudryavtsev I.V., Polevshchikov A.V. 2016. The influence of trematode infection on the hemocyte composition in *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata). Invertebrate Survival Journal 13 (1): 164–171.
- Barbosa L., Caldeira R.L., Carvalho O.S., Vidigal T.H.D.A., Jannotti-Passos L.K., Coelho P.M.Z. 2006. Resistance to *Schistosoma mansoni* by transplantation of APO *Biomphalaria tenagophila*. Parasite Immunology 28 (5): 209–212.
- Barcante T.A., Barcante J.P., Fujiwara R.T., Lima W.S. 2012. Analysis of circulating haemocytes from *Biomphalaria glabrata* following *Angiostrongylus vasorum* infection using flow cytometry. Journal of Parasitology Research 2012: 314723.
- Baron O.L., Deleury E., Reichhart J.-M., Coustau C. 2016. The LBP/BPI multigenic family in invertebrates: Evolutionary history and evidences of specialization in mollusks. Developmental and Comparative Immunology 57: 20–30.

- Barracco M.A., Steil A.A., Garqioni R. 1993. Morphological characterization of the hemocytes of the pulmonate snail *Biomphalaria tenagophila*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 88 (1): 73–83.
- Bash P.F. 1969. *Cotylurus lutzi* sp. n. (Trematoda: Strigeidae) and its life cycle. *Journal of Parasitology* 55 (3): 527–539.
- Bayne C.J., Boswell C.A., Loker E.S., Yui M.A. 1985. Plasma components which mediate cellular defences in the gastropod mollusk *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 9: 523–530.
- Bayne C.J., Hahn U.K., Bender R.C. 2001. Mechanisms of molluscan host resistance and of parasite strategies for survival. *Parasitology* 123 (Suppl. S): 159–167.
- Bayne C.J., Yoshino T.P. 1989. Determinants of compatibility in mollusc–trematode parasitism. *American Zoologist* 29 (2): 399–407.
- Blandin S.A., Levashina E.A. 2004. Thioester-containing proteins and insect immunity. *Molecular Immunology* 40 (12): 903–908.
- Bonner K.M., Bayne C.J., Larson M.K., Blouin M.S. 2012. Effects of Cu/Zn superoxide dismutase (sod1) genotype and genetic background on growth, reproduction and defense in *Biomphalaria glabrata*. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6 (6): e1701.
- Bouchut A., Roger E., Coustau C., Gourbal B., Mitta G. 2006. Compatibility in the *Biomphalaria glabrata*/*Echinostoma caproni* model: potential involvement of adhesion genes. *International Journal for Parasitology* 36 (2): 175–184.
- Castillo M.G., Wu X.J., Dinguirard N., Nyame A.K., Cummings R.D., Yoshino T.P. 2007. Surface membrane proteins of *Biomphalaria glabrata* embryonic cells bind fucosyl determinants on the tegumental surface of *Schistosoma mansoni* primary sporocysts. *Journal of Parasitology* 93 (4): 832–840.
- Cavalcanti M.G.S., Filho F.C., Mendonça A.M.B., Duarte G.R., Barbosa C.C.G.S., De Castro C.M.M.B., Alves L.C., Brayner F.A. 2012. Morphological characterization of hemocytes from *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria straminea*. *Micron* 43 (2–3): 285–291.
- Chen J.M., Cooper D.N., Chuzhanova N., Férec C., Patrinos G.P. 2007. Gene conversion: Mechanisms, evolution and human disease. *Nature Reviews Genetics* 8: 762–775.
- Cheng T.C. 1975. Functional morphology and biochemistry of molluscan phagocytes. *Annals of the New York Academy of Sciences* 266: 343–379.
- Cheng T.C. 1984. A classification of molluscan hemocytes based on functional evidence. *Comparative Pathobiology* 6: 111–146.
- Cheng T.C., Dougherty W.J. 1989. Ultrastructural evidence for the destruction of *Schistosoma mansoni* sporocysts associated with elevated lysosomal enzyme levels in *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 75 (6): 928–941.
- Cheng T.C., Guida V.G. 1980. Hemocytes of *Bulinus truncatus rohlfsi* (Mollusca, Gastropoda). *Journal of Invertebrate Pathology* 35: 158–167.
- Cheng T.C., Guida V.G., Gerhart P.L. 1978. Aminopeptidase and lysozyme activity levels and serum protein concentrations in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca) challenged with bacteria. *Journal of Invertebrate Pathology* 32 (3): 297–302.
- Cheng T.C., Jourdan J. 1987. Transient cellular reaction in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca) to heterotopic iso-grafts. *Journal of Invertebrate Pathology* 49 (3): 273–278.
- Combes C. 1995. *Interactions durables. Ecologie et evolution du parasitisme*. Paris, Milan, Barcelone, Masson, 524 p.
- Connors V.A., Lodes M.J., Yoshino T.P. 1991. Identification of *Schistosoma mansoni* sporocyst excretory/secretory antioxidant molecule and its effect on superoxide production by *Biomphalaria glabrata* hemocytes. *Journal of Invertebrate Pathology* 58: 387–395.
- Connors V.A. 2003. The schistosome–snail interaction: factors involved in host immunodefence activation and parasite killing in susceptible and resistant *Biomphalaria glabrata*. In: Combes C., Jourdan J. (eds). *Taxonomy, ecology and evolution of metazoan parasites*. Perpignan, Presses universitaires de Perpignan, 203–224.
- Connors V.A., Yoshino T.P. 1990. In vitro effect of larval *Schistosoma mansoni* excretory-secretory products on phagocytosis-stimulated superoxide production in hemocytes from *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 76 (6): 895–902.
- Conte A., Ottaviani E. 1995. Nitric oxide synthase activity in molluscan hemocytes. *FEBS Letters* 365 (2–3): 120–124.
- Coustau C., Gourbal B., Duval D., Yoshino T.P., Adema C.M., Mitta G. 2015. Advances in gastropod immunity from the study of the interaction between the snail *Biomphalaria glabrata* and its parasites: a review of research progress over the last decade. *Fish and Shellfish Immunology* 46 (1): 5–16.

- Coustau C., Kurtz J., Moret Y. 2016. A novel mechanism of immune memory unveiled at the invertebrate-parasite interface. *Trends in Parasitology* 32 (5): 353–355.
- Cribb T.H., Bray R.A., Littlewood D.T. 2001. The nature and evolution of the association among digeneans, molluscs and fishes. *International Journal for Parasitology* 31 (9): 997–1011.
- Damian R.T. 1989. Molecular mimicry: parasite evasion and host defense. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 145: 101–115.
- De Jong-Brink M. 1994. How schistosomes profit from the stress responses they elicit in their hosts. *Advances in Parasitology* 35: 177–256.
- Deininger M.H., Meyermann R., Schluesener H.J. 2002. The allograft inflammatory factor-1 family of proteins. *FEBS Letters* 514 (2–3): 115–121.
- Dheilly N.M., Duval D., Mouahid G., Emans R., Allienne J.-F., Galinier R. et al. 2015. A family of variable immunoglobulin and lectin domain containing molecules in the snail *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 48 (1): 234–243.
- Dikkeboom R., van der Knaap W.P., van den Bovenkamp W., Tijnagel J.M., Bayne C.J. 1988. The production of toxic oxygen metabolites by hemocytes of different snail species. *Developmental and Comparative Immunology* 12 (3): 509–520.
- Doolittle R.F. 1992. A detailed consideration of a principal domain of vertebrate fibrinogen and its relatives. *Protein Science* 1 (12): 1563–1577.
- Franchini A., Ottaviani E. 2000. Repair of molluscan tissue injury: role of PDGF and TGF-beta1. *Tissue Cell* 32 (4): 312–321.
- Fryer S.E., Bender R.C., Bayne C.J. 1996. Inhibition of cysteine proteinase from *Schistosoma mansoni* larvae by alpha-macroglobulin from the plasma of *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 82 (2): 343–347.
- Furuta E., Yamaguchi K. 2001. Haemolymph: blood cell morphology and function. In: Barker G.M. (ed.). *The biology of terrestrial molluscs*, 289–306.
- Galinier R., Portela J., Mone Y., Allienne J.-F., Henri H., Delbecq S. et al. 2013. Biomphalysin, a new β pore-forming toxin involved in *Biomphalaria glabrata* immune defense against *Schistosoma mansoni*. *PLoS Pathogens* 9 (3): e1003216.
- Galinier R., Tetreau G., Portet A., Pinaud S., Duval D., Gourbal B. 2017. First characterization of viruses from freshwater snails of the genus *Biomphalaria*, the intermediate host of the parasite *Schistosoma mansoni*. *Acta Tropica* 167: 196–203.
- Garcia A.B., Pierce R.J., Gourbal B., Werkmeister E., Colinet B., Reichhart J.-M., Dissous C., Coustau C. 2010. Involvement of the cytokine MIF in the snail host immune response to the parasite *Schistosoma mansoni*. *PLoS Pathogens* 6 (9): e1001115.
- Glinski Z., Jarosz J. 1997. Molluscan immune defenses. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis* 45 (2–3): 149–155.
- Gordy M.A., Pila E.A., Hanington P.C. 2015. The role of fibrinogen-related proteins in the gastropod immune response. *Fish Shellfish Immunology* 46 (1): 39–49.
- Gourbal B., Pinaud S., Beckers G., Van Der Meer J., Conrath U., Netea M. 2018. Innate immune memory: an evolutionary perspective. *Immunological Reviews* 283 (1): 21–40.
- Granath W.O., Yoshino J., Yoshino T.P. 1984. *Schistosoma mansoni*: passive transfer of resistance by serum in the vector snail, *Biomphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology* 58: 188–193.
- Guillou F., Mitta G., Dissous C., Pierce R., Coustau C. 2004. Use of individual polymorphism to validate potential functional markers: case of a candidate lectin (BgSel) differentially expressed in susceptible and resistant strains of *Biomphalaria glabrata*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 138: 175–181.
- Guillou F., Mitta G., Galonier R., Coustau C. 2007. Identification and expression of gene transcripts generated during an anti-parasitic response in *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 31: 657–671.
- Gust M., Fortier M., Garric J., Fournier M., Gagne F. 2013. Effects of short-term exposure to environmentally relevant concentrations of different pharmaceutical mixtures on the immune response of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Science of the Total Environment* 445–446: 210–218.
- Hahn U.K., Bender R.C., Bayne C.J. 2001. Killing of *Schistosoma mansoni* sporocysts by hemocytes from resistant *Biomphalaria glabrata*: role of reactive oxygen species. *Journal of Parasitology* 87: 292–299.
- Hanington P.C., Lun C.-M., Adema C.M., Loker E.S. 2010a. Time series analysis of the transcriptional responses of *Biomphalaria glabrata* throughout the course of intramolluscan development of *Schistosoma mansoni* and *Echinostoma paraensei*. *International Journal for Parasitology* 40 (7): 819–831.

- Hanington P.C., Forys M.A., Dragoo J.W., Zhang S.-M., Adema C.M., Loker E.S. 2010b. Role for a somatically diversified lectin in resistance of an invertebrate to parasite infection. *PNAS* 107 (49): 21087–21092.
- Hanington P.C., Forys M.A., Loker E.S. 2012. Somatically diversified defense factor, FREP3, is a determinant of snail resistance to *Schistosoma* infection. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6 (3): e1591.
- Harris K.R. 1975. The fine structure of encapsulation in *Biomphalaria glabrata*. *Annals of the New York Academy of Sciences* 266: 446–464.
- Hermann P.M., Nicol J.J., Nagle G.T., Bulloch A.G., Wildering W.C. 2005. Epidermal growth factor-dependent enhancement of axonal regeneration in the pond snail *Lymnaea stagnalis*: role of phagocyte survival. *Journal of Comparative Neurology* 492 (4): 383–400.
- Hermann P.M., Nicol J.J., Bulloch A.G., Wildering W.C. 2008. RGD-dependent mechanisms in the endoneurial phagocyte response and axonal regeneration in the nervous system of the snail *Lymnaea stagnalis*. *Journal of Experimental Biology* 211: 491–501.
- Hertel L.A., Adema C.M., Loker E.S. 2005. Differential expression of FREP genes in two strains of *Biomphalaria glabrata* following exposure to the digenetic trematodes *Schistosoma mansoni* and *Echinostoma paraensei*. *Developmental and Comparative Immunology* 29 (4): 295–303.
- Hokke C.H., Fitzpatrick J.M., Hoffmann K.F. 2007. Integrating transcriptome, proteome and glycome analyses of *Schistosoma* biology. *Trends in Parasitology* 23 (4): 165–174.
- Horak P., Deme R. 1998. Lectins and saccharides in *Lymnaea stagnalis* hemocyte recognition. *Comparative Hematology International* 8 (4): 210–218.
- Humphries J.E., Yoshino T.P. 2008. Regulation of hydrogen peroxide release in circulating hemocytes of the planorbid snail *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 32 (5): 554–562.
- Ittiprasert W., Miller A., Myers J., Nene V., El-Sayed N.M., Knight M. 2010. Identification of immediate response genes dominantly expressed in juvenile resistant and susceptible *Biomphalaria glabrata* snails upon exposure to *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 169 (1): 27–39.
- Janeway C.A. Jr, Medzhitov R. 2002. Innate immune recognition. *Annual Review of Immunology* 20: 197–216.
- Jeong, K.H., Heyneman D. 1976. Leukocytes of *Biomphalaria glabrata*: morphology and behavior of granulocytic cell in vitro. *Journal of Invertebrate Pathology* 28 (3): 357–362.
- Jeong K.H., Lie K.J., Heyneman D. 1983. The ultrastructure of the amebocyte-producing organ in *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 7 (2): 217–228.
- Jiang Y., Loker E.S., Zhang S.-M. 2006. In vivo and in vitro knockdown of FREP2 gene expression in the snail *Biomphalaria glabrata* using RNA interference. *Developmental and Comparative Immunology* 30 (10): 855–866.
- Joky A. 1982. Les amœbocytes de *Biomphalaria glabrata*; rôle dans les réactions de défense du mollusque. Diplôme de docteur, Paris, 72 p.
- Joky A., Matricon-Gondran M., Benex J. 1983. Fine structural differences in the amœbocytes of *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 7 (4): 669–672.
- Joky A., Matricon-Gondran M. 1985. Response to the amœbocyte-producing organ of sensitized *Biomphalaria glabrata* after exposure to *Echinostoma caproni* miracidia. *Journal of Invertebrate Pathology* 45 (1): 28–33.
- Jourdane J., Cheng T.C. 1987. The two-phase recognition process of allografts in Brazilian strain of *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Invertebrate Parasitology* 49 (2): 145–158.
- Kinoti G.K. 1971. Observation on the infection of bulinid snails with *Schistosoma mantthei*. II. The mechanism of resistance to infection. *Parasitology* 62 (1): 161–170.
- Kurosawa Y., Hashimoto K. 1996. The immunoglobulin superfamily: where do invertebrates fit in? In: Cooper E. (ed.). *Advances in Comparative and Environmental Physiology*, Berlin, Springer, 23: 151–184.
- Lassalle D., Tetreau G., Pinaud S., Galinier R., Crickmore N., Gourbal B., Duval D. 2020. Glabralysins, potential new β -pore-forming toxin family members from the schistosomiasis vector snail *Biomphalaria glabrata*. *Genes* 11 (1): 65.
- Li H., Hambrook J.R., Pila E.A., Gharamah A.A., Fang J., Wu X., Hanington P. 2020. Coordination of humoral immune factors dictates compatibility between *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria glabrata*. *Elife* 9: e51708.
- Lie K.J., Heyneman D. 1975. Studies on resistance in snails: a specific tissue reaction to *Echinostoma lindoense* in *Biomphalaria glabrata* snails. *International Journal for Parasitology* 5: 621–625.
- Lie K.J., Heyneman D. 1976a. Studies on resistance in snails. 3. Tissue reactions to *Echinostoma lindoense* sporocysts in sensitized and resensitized *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 62 (1): 51–58.
- Lie K.J., Heyneman D. 1976b. Studies on resistance in snails. 6. Escape of *Echinostoma lindoense* sporocysts from encapsulation in the snail heart and subsequent loss of the host's ability to resist infection by the same parasite. *Journal of Parasitology* 62 (2): 298–302.

- Lie K.J., Heyneman D., Jeong K.H. 1976. Studies on resistance in snails. 4. Induction of ventricular capsules and changes in the amebocyte-producing organ during sensitization of *Biomphalaria glabrata* snails. *Journal of Parasitology* 62 (2): 286–291.
- Lie K.J., Heyneman D., Richards C.S. 1977. Studies on resistance in snails: interference by nonirradiated echinostome larvae with natural resistance to *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Invertebrate Pathology* 29: 118–125.
- Lie K.J., Heyneman D., Yau P. 1975. The origin of amebocytes in *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 61 (3): 574–576.
- Lie K.J., Jeong K.H., Heyneman D. 1982. Further characterization of acquired resistance in *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 68 (4): 529–531.
- Lie K.J., Jeong K.H., Heyneman D. 1983. Acquired resistance in snails. Induction of resistance to *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata*. *International Journal for Parasitology* 13 (3): 301–304.
- Lockyer A.E., Jones C.S., Noble L.R., Rollinson D. 2004. Trematodes and snails: an intimate association. *Canadian Journal of Zoology* 82 (2): 251–269.
- Lockyer A.E., Emery A.M., Kane R.A., Walker A.J., Mayer C.D., Mitta G., Coustau C. et al. 2012. Early differential gene expression in haemocytes from resistant and susceptible *Biomphalaria glabrata* strains in response to *Schistosoma mansoni*. *PLoS One* 7 (12): e51102.
- Lodes M.J., Yoshino T. 1990. The effect of schistosome excretory-secretory products on *Biomphalaria glabrata* haemocyte motility. *Journal of Invertebrate Pathology* 56 (1): 75–85.
- Loker E.S., Adema C.M., Zhang S.-M., Kepler T. 2004. Invertebrate immune systems – not homogeneous, not simple, not well understood. *Immunological Reviews* 198: 10–24.
- Loker E.S., Cimino D.F., Hertel L.A. 1992. Excretory-secretory products of *Echinostoma paraensei* sporocysts mediate interference with *Biomphalaria glabrata* hemocyte functions. *Journal of Parasitology* 78 (1): 104–115.
- Loker E.S., Bayne C.J., Yui M.A. 1986. *Echinostoma paraensei*: hemocytes of *Biomphalaria glabrata* as targets of *Echinostome* mediated interference with host resistance to *Schistosoma mansoni*. *Experimental Parasitology* 62 (1): 149–154.
- Loker E.S., Bayne C.J., Buckley P.M., Kruse K.T. 1982. Ultrastructure of encapsulation of *Schistosoma mansoni* mother sporocysts by hemocytes of the juveniles of the 10-R2 strain of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Gastropoda). *Journal of Parasitology* 68 (1): 84–94.
- Martins-Souza R.L., Pereira C.A.J., Coelho P.M.Z., Martins-Filho O.A., Negrão-Corrêa D. 2009. Flow cytometry analysis of the circulating haemocytes from *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria tenagophila* following *Schistosoma mansoni* infection. *Parasitology* 136 (1): 67–76.
- Matricon-Gondran M., Letocart M. 1999. Internal defenses of the snail *Biomphalaria glabrata*. I. Characterization of hemocytes and fixed phagocytes. *Journal of Invertebrate Pathology* 74 (3): 224–234.
- Medzhitov R., Janeway C.A. 1997. Innate Immunity: The virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell* 91 (3): 295–298.
- Melillo D., Marino R., Italiani P., Boraschi D. 2018. Innate immune memory in invertebrate metazoans: A Critical Appraisal. *Frontiers in Immunology* 9: 1915.
- Mitta G., Galinier R., Tisseire P., Allienne J.-F., Girerd-Chambaz Y., Guillou F. et al. 2005. Gene discovery and expression analysis of immune-relevant genes from *Biomphalaria glabrata* hemocytes. *Developmental and Comparative Immunology* 29 (5): 393–407.
- Mitta G., Adema C.M., Gourbal B., Loker E.S., Theron A. 2012. Compatibility polymorphism in snail/schistosome interactions: From field to theory to molecular mechanisms. *Developmental and Comparative Immunology* 37 (1): 1–8.
- Mitta G., Gourbal B., Grunau C., Knight M., Bridger J.M., Theron A. 2017. The compatibility between *Biomphalaria glabrata* snails and *Schistosoma mansoni*: an increasingly complex puzzle. *Advances in Parasitology* 97: 111–145.
- Mone Y., Gourbal B., Duval D., Du Pasquier L., Kieffer-Jaquinod S., Mitta G. 2010. A large repertoire of parasite epitopes matched by a large repertoire of host immune receptors in an invertebrate host/parasite model. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 4: e813.
- Monteil J.F., Matricon-Gondran M. 1991. Hemocyte production in trematode-infected *Lymnaea truncatula*. *Parasitology Research* 77 (6): 491–497.
- Mouahid A., Mone H. 1990. Interference of *Echinoparyphium elegans* with the host-parasite system *Bulinus truncatus*–*Schistosoma bovis* in natural conditions. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 84 (4): 341–348.
- Mount A.S., Wheeler A.P., Paradkar R.P., Snider D. 2004. Hemocyte-mediated shell mineralization in the Eastern oyster. *Science* 304 (5668): 297–300.

- Myers J., Ittiprasert W., Raghavan N., Miller A., Knight M. 2008. Differences in cysteine protease activity in *Schistosoma mansoni* resistant and susceptible *Biomphalaria glabrata* and characterization of the hepatopancreas cathepsin B full-length cDNA. *Journal of Parasitology* 94 (3): 659–668.
- Netea M.G., Joosten L.A.B., Latz E., Mills K.H.G., Natoli G., Stunnenberg H.G. et al. 2016. Trained immunity: a program of innate immune memory in health and disease. *Science* 352 (6284): aaf1098.
- Nie L., Cai S.-Y., Shao J.-Z., Chen J. 2018. Toll-like receptors, associated biological roles, and signaling networks in non-mammals. *Frontiers in immunology* 9 (1523): 1–19.
- Noda S. 1992. Effects of excretory-secretory products of *Echinostoma paraensei* larvae on the hematopoietic organ of M-line *Biomphalaria glabrata* snails. *Journal of Parasitology* 78 (3): 512–517.
- Oliveira A.L.D., Levada P.M., Zanotti-Magalhaes E.M., Magalhaes L.A., Ribeiro-Paes J. 2010. Differences in the number of hemocytes in the snail host *Biomphalaria glabrata*, resistant and susceptible to *Schistosoma mansoni* infection. *Genetics and Molecular Research* 9 (4): 2436–2445.
- Ottaviani E. 1983. The blood cells of the freshwater snail *Planorbis corneus* (Gastropoda, Pulmonata). *Developmental and Comparative Immunology* 7 (2): 209–216.
- Ottaviani E. 2006. Molluscan immunorecognition. *Invertebrate Survival Journal* 3: 50–63.
- Ottaviani E., Franchini A. 1988. Ultrastructural study of haemocytes of the freshwater snail *Planorbis corneus* (Gastropoda, Pulmonata). *Acta Zoolologica* 69 (3): 157–162.
- Pan C.T. 1958. The general histology and topographic microanatomy of *Australorbis glabratus*. *Bulletin of Museum of Comparative Zoology* 119: 237–299.
- Pan C.T. 1965. Studies on the host–parasite relationship between *Schistosoma mansoni* and the snail *Australorbis glabratus*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 14: 931–976.
- Pees B., Yang W., Zarate-Potes A., Schulenburg H., Dierking K. 2016. High innate immune specificity through diversified C-type lectin-like domain proteins in invertebrates. *Journal of Innate Immunity* 8: 129–142.
- Peterson N.A., Hokke C.H., Deelder A.M., Yoshino T.P. 2009. Glycotope analysis in miracidia and primary sporocysts of *Schistosoma mansoni*: differential expression during the miracidium-to-sporocyst transformation. *International Journal for Parasitology* 39: 1331–1344.
- Pila E.A., Sullivan J.T., Wu X.Z., Fang J., Rudko S.P., Gordy M.A., Hanington P.C. 2016a. Haematopoiesis in molluscs: A review of haemocyte development and function in gastropods, cephalopods and bivalves. *Developmental and Comparative Immunology* 58: 119–128.
- Pila E.A., Tarrabain M., Kabore A.L., Hanington P.C. 2016b. A novel Toll-like receptor (TLR) influences compatibility between the gastropod *Biomphalaria glabrata*, and the digenean trematode *Schistosoma mansoni*. *PLoS Pathogens* 12: e1005513.
- Pila E.A., Li H., Hambrook J.R., Wu X., Hanington P.C. 2017. Schistosomiasis from a snail's perspective: advances in snail immunity. *Trends of Parasitology* 33 (11): 845–857.
- Pinaud S., Portela J., Duval D., Nowacki F.C., Olive M.A., Allienne J.-F. et al. 2016. A shift from cellular to humoral responses contributes to innate immune memory in the vector snail *Biomphalaria glabrata*. *PLoS Pathogens* 12: e1005361.
- Pinaud S., Portet A., Allienne J.-F., Belmudes L., Saint-Beat C., Arancibia N. et al. 2019. Molecular characterisation of immunological memory following homologous or heterologous challenges in the schistosomiasis vector snail, *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 92: 238–252.
- Portela J., Duval D., Rognon A., Galinier R., Boissier J., Coustau C. et al. 2013. Evidence for specific genotype-dependent immune priming in the lophotrochozoan *Biomphalaria glabrata* snail. *Journal of Innate Immunity* 5: 261–276.
- Portet A., Galinier R., Pinaud S., Portela J., Nowacki F., Gourbal B., Duval D. 2018. BgTEP: an antiprotease involved in innate immune sensing in *Biomphalaria glabrata*. *Frontiers in Immunology* 9: 1206.
- Portet A., Pinaud S., Chaparro C., Galinier R., Dhelly N.M., Portela J. et al. 2019. Sympatric and allopatric evolutionary contexts shape differential immune response in *Biomphalaria/Schistosoma* interaction. *PLoS Pathogens* 15: e1007647.
- Prokhorova E.E., Serebryakova M.K., Tokmakova A.S., Ataev G.L. 2018. Hemocytes of mollusc *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Pulmonata). *Invertebrate Survival Journal* 15: 346–351.
- Renwanz L. 1986. Lectins in molluscs and arthropods: their occurrence, origin and roles in immunity. In: Lackie A.M. (ed.). *Immune mechanisms in invertebrate vectors*. Oxford, Oxford Scientific Publications, 81–93.
- Rodelaud D., Barthe D. 1981. The development of the amoebocyte-producing organ in *Lymnaea truncatula* Müller infected by *Fasciola hepatica* L. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 65: 331–341.
- Rowley A.F., Powell A. 2007. Invertebrate immune systems-specific, quasi-specific, or nonspecific? *Journal of Immunology* 179: 7209–7214.

- Salamat Z., Sullivan J. 2009. Involvement of protein kinase C signalling and mitogen-activated protein kinase in the amebocyte-producing organ of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca). *Developmental and Comparative Immunology* 33 (6): 725–727.
- Sarashina I., Yamaguchi H., Haga T., Iijima M., Chiba S., Endo K. 2006. Molecular evolution and functionally important structures of molluscan dermatopontin: implications for the origins of molluscan shell matrix proteins. *Journal of Molecular Evolution* 62 (3): 307–318.
- Sasaki Y., Furuta E., Kirinoki M., Seo N., Matsuda H. 2003. Comparative studies of the internal defense system of schistosome-resistant and -susceptible amphibious snail *Oncomelania nosophora*: 1. Comparative morphological and functional studies on hemocytes from both snails. *Zoological Science* 20: 1215–1222.
- Schell S.C. 1965. The life history of *Haematoloechus breviplexus* Stafford, 1902 (Trematoda: Haplometridae McMullen, 1937) with emphasis on the development of the sporocysts. *Journal of Parasitology* 51 (4): 587–593.
- Seppälä O., Leicht K. 2013. Activation of the immune defence of the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* by different immune elicitors. *Journal of Experimental Biology* 216: 2902–2907.
- Sire C., Rognon A., Theron A. 1998. Failure of *Schistosoma mansoni* to reinfect *Biomphalaria glabrata* snails: acquired humoral resistance or intra-specific larval antagonism? *Parasitology* 117: 117–122.
- Sminia T. 1972. Structure and function of blood and connective tissue cells of the fresh-water pulmonate *Lymnaea stagnalis* studied by electron microscopy and enzyme histochemistry. *Zeitschrift für Zellforschung* 130: 497–526.
- Sminia T. 1974. Haematopoiesis in the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* studied by electron microscopy and autoradiography. *Cell and Tissue Research* 150: 443–454.
- Sminia T. 1981. Gastropods. In: Ratcliffe N.A., Rowley A.F. (eds). *Invertebrate Blood Cells*, Vol. I. London, Academic Press, 190–232.
- Sminia T., van der Knaap W.P.W., van Asselt L.A. 1983. Blood cell types and blood cell formation in gastropod molluscs. *Developmental and Comparative Immunology* 7: 665–668.
- Sminia T.A., Barendsen L. 1980. Comparative morphological and enzymes histochemical study on blood cells of the freshwater snails *Lymnaea stagnalis*, *Biomphalaria glabrata*, and *Bulinus truncatus*. *Journal of Morphology* 165: 31–39.
- Sminia T., Borghart-Reinders E., van de Linde A.W. 1974. Encapsulation of foreign material experimentally introduced into the fresh water snail *Lymnaea stagnalis*: an electron microscopic and autoradiographic study. *Cell and Tissue Research* 153: 307–326.
- Souza S.S., Andrade Z.A. 2006. On the origin of the *Biomphalaria glabrata* hemocytes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 101: 213–218.
- Spatz L., Cappa S.M.G., Ostrowski de Núñez M. 2012. Susceptibility of wild populations of *Biomphalaria* spp. from neotropical South America to *Schistosoma mansoni* and interference of *Zygocotyle lunata*. *Journal of Parasitology* 98 (6): 1291–1295.
- Stumpf J.L., Gilbertson D.E. 1980. Differential leukocytic responses of *Biomphalaria glabrata* to infection with *Schistosoma mansoni*. *Journal of Invertebrate Pathology* 35 (2): 217–218.
- Sullivan J.T. 1988. Hematopoiesis in three species of gastropods following infection with *Echinostoma paraensei* (Trematoda: Echinostomatidae). *Transactions of the American Microscopical Society* 107 (4): 335–361.
- Sullivan J.T. 1990. Long-term survival of heterotopic allografts of the amebocyte-producing organ in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata). *Transactions of the American Microscopical Society* 109 (1): 52–60.
- Sullivan J.T., Belloir J.A., Beltran R.V., Grivakis A., Ransone K.A. 2014. Fucoidan stimulates cell division in the amebocyte-producing organ of the schistosome-transmitting snail *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Invertebrate Pathology* 123: 13–16.
- Sullivan J.T., Bulman C.A., Salamat Z. 2011. Effect of crude lipopolysaccharide from *Escherichia coli* O127:B8 on the amebocyte-producing organ of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca). *Developmental and Comparative Immunology* 35 (11): 1182–1185.
- Sullivan J.T., Hu P.C. 1996. Fate of *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria obstructa*. *Journal of Parasitology* 82 (5): 743–747.
- Sullivan J.T., Lares R.R., Galvan A.G. 1998. *Schistosoma mansoni* infection inhibits maturation of ovotestis allografts in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata). *Journal of Parasitology* 84 (1): 82–87.
- Sullivan J.T., Pikios S.S., Alonzo A.Q. 2004. Mitotic responses to extracts of miracidia and cercariae of *Schistosoma mansoni* in the amebocyte-producing organ of the snail intermediate host *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 90 (1): 92–96.
- Sullivan J.T., Richards C.S., Joe L.K., Heyneman D. 1982. *Ribeiroia marini*: irradiated miracidia and induction of acquired resistance in *Biomphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology* 53 (1): 17–25.

- Sullivan J.T., Spence J.V. 1999. Factors affecting adoptive transfer of resistance to *Schistosoma mansoni* in the snail intermediate host, *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 85 (6): 1065–1071.
- Takeda K., Kaisho T., Akira S. 2003. Toll-like receptors. *Annual Review of Immunology* 21 (1): 335–76.
- Takeda K., Akira S. 2015. Toll-like Receptors. *Current Protocols in Immunology* 109: 14.12.1–14.12.10.
- Tetreau G., Pinaud S., Portet A., Galinier R., Gourbal B., Duval D. 2017. Specific pathogen recognition by multiple innate immune sensors in an invertebrate. *Frontiers in Immunology* 8: 1249.
- Theron A., Coustau C. 2005. Are *Biomphalaria* snails resistant to *Schistosoma mansoni*? *Journal of Helminthology* 79 (3): 187–191.
- Tokmakova A.S., Serebryakova M.K., Prokhorova E.E., Ataev G.L. 2020. Study of the proliferative activity of hemolymph cells in pulmonate molluscs. *Invertebrate Survival Journal* 17: 63–74.
- van der Knaap W.P.W. 1981. Recognition of foreignness in the internal defence system of the fresh-water gastropod *Lymnaea stagnalis*. *Developmental and Comparative Immunology* 1: 91–97.
- van der Knaap W.P.W., Loker E.S. 1990. Immune mechanisms in trematode – snail interactions. *Parasitology Today* 6 (6): 176–182.
- van der Knaap W.P.W., Adema C.M., Sminia T. 1993. Invertebrate blood cells: morphological and functional aspects of the haemocytes in the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Comparative Haematology International* 3: 20–26.
- Vasquez R.E., Sullivan J.T. 2001. Hematopoietic tissue allografts in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata) induce humoral immunity to *Schistosoma mansoni*. *Developmental and Comparative Immunology* 25 (7): 561–564.
- Vasta G.R., Feng C., Bianchet M.A., Bacvaroff T.R., Tasumi S. 2015. Structural, functional, and evolutionary aspects of galectins in aquatic mollusks: from a sweet tooth to the trojan horse. *Fish and Shellfish Immunology* 46 (1): 94–106.
- Wallet S.M., Puri V., Gibson F.C. 2018. Linkage of infection to adverse systemic complications: periodontal disease, Toll-like receptors, and other pattern recognition systems. *Vaccines* 6 (2): 21.
- Webster J.P., Davies C.M. 2001. Coevolution and compatibility in the snail-schistosome system. *Parasitology* 123 (7): 41–56.
- Wu X.-J., Dinguirard N., Sabat G., Lui H., Gonzalez L., Gehring M. et al. 2017. Proteomic analysis of *Biomphalaria glabrata* plasma proteins with binding affinity to those expressed by early developing larval *Schistosoma mansoni*. *PLoS Pathogens* 13 (5): e1006081.
- Yamaguchi K., Furuta E., Shimozaawa A. 1988. Morphological and functional studies on hemolymph cells of land slug, *Incilaria bilineata*, *in vivo* and *in vitro*. In: Kuroda Y., Kurstak E., Maramorosch K. (eds). *Invertebrate and fish tissue culture. Proceedings of the 7th international conference on invertebrate and fish tissue culture*, Japan, 1987. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag, 247–250.
- Yoshino T.P., Brown M., Wu X.-J., Jackson C.J., Ocádiz-Ruiz R., Chalmers I.W. et al. 2014. Excreted/secreted *Schistosoma mansoni* venom allergen-like 9 (SmVAL9) modulates host extracellular matrix remodelling gene expression. *International Journal of Parasitology* 44: 551–563.
- Yoshino T.P., Dinguirard N., Kunert J., Hokke C.H. 2008. Molecular and functional characterization of a tandem-repeat galectin from the freshwater snail *Biomphalaria glabrata*, intermediate host of the human blood fluke *Schistosoma mansoni*. *Gene* 411: 46–58.
- Yoshino T.P., Granath W.O. 1983. Identification of antigenically distinct hemocyte subpopulations in *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda) using monoclonal antibodies to surface membrane markers. *Cell Tissue Research* 232: 553–564.
- Yoshino T.P., Granath W.O. 1985. Surface antigens of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda) hemocytes: functional heterogeneity in cell subpopulations recognized by a monoclonal antibody. *Journal of Invertebrate Pathology* 45: 174–186.
- Yoshino T.P., Lodes M.J., Rege A.A., Chappell C.L. 1993. Proteinase activity in miracidia, transformation excretory-secretory products, and primary sporocysts of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology* 79 (1): 23–31.
- Yoshino T.P., Wu X.-J., Gonzalez L.A., Hokke C.H. 2013. Circulating *Biomphalaria glabrata* hemocyte subpopulations possess shared schistosome glycans and receptors capable of binding larval glycoconjugates. *Experimental Parasitology* 133 (1): 28–36.
- Zhang S.-M., Adema C.M., Kepler T.B., Loker E.S. 2004. Diversification of Ig superfamily genes in an invertebrate. *Science* 305: 251–254.
- Zhang S.-M., Loker E.S. 2004. Representation of an immune responsive gene family encoding fibrinogen-related proteins in the freshwater mollusk *Biomphalaria glabrata*, an intermediate host for *Schistosoma mansoni*. *Gene* 341: 255–266.

- Zhang S.-M., Zeng Y., Loker E.S. 2008. Expression profiling and binding properties of fibrinogen-related proteins (FREPs), plasma proteins from the schistosome snail host *Biomphalaria glabrata*. *Innate Immunity* 14 (3): 175–189.
- Zhang S.-M., Loker E.S., Sullivan T.J. 2016. Pathogen-associated molecular patterns activate expression of genes involved in cell proliferation, immunity and detoxification in the amebocyte-producing organ of the snail *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 56: 25–36.

DEFENSE REACTIONS OF PULMONATE MOLLUSCS DURING PARASITIC INVASION

© G. L. Ataev, E. E. Prokhorova, A. S. Tokmakova

Keywords: pulmonate molluscs, cellular immunity, humoral immunity, hemocytes, hematopoiesis

SUMMARY

Defense reactions of pulmonate molluscs have been actively studied in the last decades, which resulted in the accumulation of abundant data on various aspects of their immune response both at the cellular and the humoral level. Several reviews analyzing this material have recently been published (Adema, Loker, 2015; Pila et al., 2016a; Melillo et al., 2018; Li et al., 2020). However, the last reviews on this subject in Russian were published more than 15 years ago (Ataev, Polevshchikov, 2004; Ataev et al., 2005a, b; Galaktionov, 2005). This review aims to generalize modern ideas about the immune response of pulmonate molluscs and to outline the main problems in this area. It considers defense reactions of the molluscs to various immunization factors, with the focus on the response to trematode invasion. This is due not only to the importance of pulmonates as intermediate hosts of trematodes but also but the possible involvement of these parasites in the development of molluscan immunity.

УДК: 576.895.132.2.99

**УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ
КОЖНО-МУСКУЛЬНОГО МЕШКА
ГЕЛЬМИНТА *TRICHOSTRONGYLUS TENUIS* (MEHLIS, 1846)
(NEMATODA: TRICHOSTRONGYLIDAE)**

© 2020 г. М. И. Сеидбейли¹, Ф. Г. Рзаев^{2, 3, *}, Э. К. Гасымов²

¹ Нахичеванский Государственный Университет, Нахичевань,
Университетский городок, AZ7012 Азербайджан

² Азербайджанский Медицинский Университет,
Баку, ул. С. Вургуна 163, AZ1078 Азербайджан

³ Институт Зоологии НАН Азербайджана,
Баку, ул. А. Аббасзаде, 1128/504, AZ1004 Азербайджан

* e-mail: fuad.zi@mail.ru

Поступила в редакцию 01.04.2020 г.

После доработки 19.07.2020 г.

Принята к печати 21.07.2020 г.

Методами световой и электронной микроскопии исследовано строение кожно-мускульного мешка нематоды *Trichostrongylus tenuis* (Mehlis, 1846) (самец) из семейства Trichostrongylidae. Установлено, что кутикула гельминта состоит из 8 слоев: 1 – внешняя мембрана или эпикутикула; 2, 3 – внешний и внутренний корковые слои; 4 – гомогенный или средний слой; 5, 6, 7 – внешний, средний и внутренний волокнистые слои; 8 – базальная мембрана. В отличие от других нематод, в гомогенном слое кутикулы *T. tenuis* не было выявлено темных кутикулярных распок. Кутикулярные гребни, которые имеют диагностическое значение, у данной нематоды по размеру малы, но по количеству их больше, чем у других изученных видов. На ультраструктурном уровне прослежены и описаны обновление кутикулы личинки 4-й стадии (самец) и формирование новой кутикулы у половозрелого гельминта. Кутикулярные гребни у *T. tenuis* появляются на последнем этапе линьки, когда старая кутикула уже полностью отделяется от новой, а не на ранних этапах, как у других близких видов. У мышечных клеток *T. tenuis* плазматическая часть значительно меньше, чем сократимая. Мышечный слой, будучи крупнее двух других слоев, толще кутикулы в 1.6 раз и гиподермы в 9.1 раз.

Ключевые слова: нематоды, *Trichostrongylus tenuis*, кутикула, гиподерма, мышечный слой, ультраструктура, трансмиссионный электронный микроскоп

DOI: 10.31857/S123456780605003X

В результате гельминтологических исследований, проведенных в Азербайджанской Республике на территории Нахичеванской Автономной Республики в 2014–2018 гг.,

у домашних водоплавающих птиц (домашний гусь – *Anser anser domesticus* (L.) и домашняя утка – *Anas platyrhynchos domesticus* (L.)) выявлено 14 видов гельминтов (Сеидбейли, Магеррамов, 2018; Сеидбейли, 2018; Seyidbeyli, Rzayev, 2018). Среди паразитов, отмеченных на территории Автономной Республики, широко распространена нематода *Trichostrongylus tenuis* (Mehlis, 1846) – специфичный паразит домашних водоплавающих птиц, который наносит наиболее серьезный вред организму хозяина (Seyidbeyli, 2019; Seyidbeyli et al., 2019). Изучение ультраструктуры основных возбудителей гельминтозов на всех стадиях развития имеет существенное значение для уточнения систематического положения паразита. В настоящее время имеются литературные данные об ультраструктуре кутикулы и о ряде морфологических особенностей лишь для некоторых видов семейства Trichostrongylidae, в том числе для паразитирующей у человека нематоды *Trichostrongylus colubrififormis* (Giles, 1892) (Lee, 1965, 1970; Kenneth, Eric, 1972; Lee, Nicholls, 1983; Martin, Lee, 1983; Wharton, 1986; Beveridge, Durette-Desset, 1994; Lattes et al., 2011; Sato et al., 2011; Issarapong et al., 2013; Kareem t al., 2014). Нам неизвестны литературные данные по ультраструктуре нематоды *T. tenuis*. Учитывая все вышесказанное, была поставлена цель исследовать строение кожно-мышечного мешка (кутикула, гиподерма и мышечный слой) нематоды *T. tenuis* методами световой и электронной микроскопии на ультраструктурном уровне и провести сравнительный анализ полученных данных с другими видами трихостронгилид.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Методом полного паразитологического вскрытия (Скрябин, 1928; Дубинина, 1971) исследовано 20 экземпляров однолетних домашних водоплавающих птиц (10 экземпляров гусей и 10 экземпляров уток) из частных птицеводческих хозяйств деревни Сираб Бабекского района Нахичеванской Автономной Республики (39°17'26"N, 45°30'51"E). Собраны нематоды *T. tenuis*. Гельминты окрашены кармином и обезвожены, затем приготовлены постоянные препараты в канадском балъзаме. Препараты изучены под стереомикроскопом МБС-9 (Россия) и микроскопом Promo Star (Carl Zeiss, Германия). Для идентификации использован определитель Рыжикова (1967). С целью изучения ультраструктуры сразу после вскрытия птиц половозрелые нематоды (♂, из слепых отростков) и личинки 4-й стадии (♂, из тонкой кишки) были разрезаны и зафиксированы смесью 2 % раствора глутаральдегида, 2 % раствора параформальдегида и 0.1 % раствора пикриновой кислоты на 0.1M фосфатном буфере (pH = 7.4). Постфиксация проводилась в 1 % растворе четырехоксида осмия в течение часа. Из материала по общепринятым в электронной микроскопии протоколам приготовлены Аралдит-Эпон блоки (Куо, 2007). Полу- и ультратонкие срезы изготовлены с помощью ультрамикротомы EM UC7 (Leica, Германия). Полутонкие срезы (1–2 мкм) окрашивались метиленовым синим, азур II, фуксином (D'Amico, 2005) и изучались под микроскопом Promo Star; фотографии получены с помощью цифровой фотокамеры Canon EOS 650D (Canon Inc., Япония). Ультратонкие срезы (50–70 нм) окрашивались 2 % насыщенным водным раствором уранилацетата, затем 0.6 % раствором чистого цитрата свинца на 0.1M растворе NaOH. Электронограммы получали на трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1400 (JOEL, Япония) при напряжении 80–120 кв. Измерения на фотографиях сделаны при помощи программы ITEM -TEM Imaging Platform, статистическая обработка данных выполнялась с помощью программы Microsoft Excel: вычислялись минимум, максимум, среднее, ошибка среднего и стандартное отклонение. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Кожно-мускульный мешок половозрелой нематоды *T. tenuis* (самец) состоит из трех слоев: кутикула, гиподерма и мышечный слой (рис. 1*A*, 1*D*).

Кутикула. Является производной от гиподермы и образует оболочку тела. В передней части тела она не имеет отчетливой поперечной исчерченности, далее, по направлению назад к бурсе, кутикула имеет морфологически отличающиеся одна от другой зубчатые формы. Кутикула нематоды *T. tenuis*, как и у других видов из семейства Trichostrongylidae, представляет собой три основных слоев: кортикальный; средний, или гомогенный; фибриллярный. Каждый из них, в свою очередь, делится на несколько слоев. Снаружи кутикула покрыта мембраной, или эпикутикулой, далее идут внешний и внутренний корковые слои; гомогенный, или средний слой; трехслойный волокнистый слой; базальная мембрана (рис. 1*B*).

Нематоды, в том числе *T. tenuis*, до достижения половозрелой формы проходят процесс линьки. До начала линьки нижние слои старой кутикулы растворяются. В это время в гиподерме начинают развиваться новые слои кутикулы. Экзувиальная жидкость, образовавшаяся между этими слоями (новой и старой), смягчая старую кутикулу, выталкивает ее на поверхность. Мы наблюдали обновление кутикулы личинки 4-й стадии и формирование новой кутикулы уже у половозрелого гельминта *T. tenuis* (рис. 2). Структура кутикулы личинки 4-й стадии мало отличается от структуры кутикулы половозрелого гельминта. Видны все три основных слоя. На рис. 2*A* уже заметно образование границы между новой и старой кутикулой и общие недифференцированные слои новой кутикулы (на рис. 2*A* черными стрелками показан старый слой, белыми стрелками показано начало образования новой кутикулы). На рис. 2*B*, 2*C* наблюдается образование жидкости на границе новой и старой кутикулы (обозначена черными звездочками) и прослеживается движение старой кутикулы в сторону поверхности тела. В новой кутикуле четко виден волокнистый слой. Уже сформирован внешний и внутренний корковые слои. На рис. 2*D* отмечается частичное отслоение старой кутикулы; на рис. 2*E* у новой кутикулы уже образовались все слои, и старая кутикула полностью отслоилась. Таким образом, линька личинки 4-й стадии и формирование кутикулы у половозрелой нематоды *T. tenuis* полностью прослежены на электронограммах (рис. 2*A*–2*E*).

Гиподерма. Расположена между кутикулой и мышечным слоем. Здесь имеются митохондрии, аппарат Гольджи, эндоплазматическая сеть и гликоген. Митохондрии маленькие, кристы плохо видны. В гиподерме нематоды *T. tenuis* обнаруживается 4 гиподермальных валика (2 латеральных, 1 дорсальный и 1 вентральный – рис. 1*C*). В латеральных валиках проходят выделительные каналы (рис. 3*C*, 3*D*; просвет канала обозначен белой звездочкой), а в дорсальном и вентральном – продольные стволы нервной системы (рис. 3*A*, 3*B*; обозначены белыми звездочками). Латеральные валики крупнее дорсального и вентрального валиков, но содержат меньше митохондрий. Гиподерма снизу подстиляется базальной мембраной (рис. 3*C*; обозначена белой стрелкой).

Мышечный слой. Разделен гиподермальными валиками на 4 сектора. Мышечные клетки состоят из сильно развитой сократимой и плазматической части. Сократимая часть состоит из двух крупных фибриллярных стволов. Фибриллярные стволы делятся на фибриллярные пучки, а они, в свою очередь, – на толстые и тонкие филаменты. Плазматическая часть меньше, чем сократимая (рис. 4).

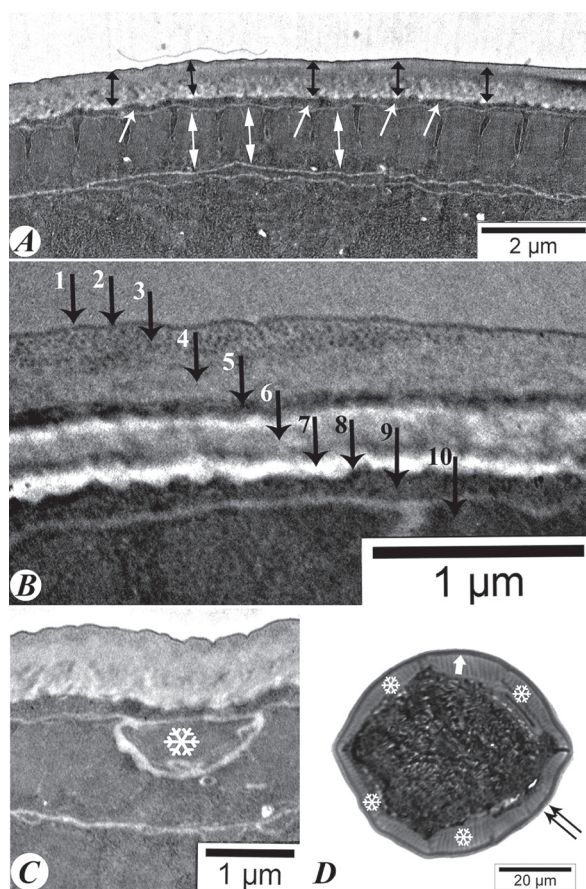


Рисунок 1. Кожно-мускульный мешок нематоды *Trichostrongylus tenuis* (самец). *A–C*: электронно-микроскопические фотографии ультратонких срезов (50–70 нм), окрашенных уранилацетатом и цитратом свинца; *D* – фотография на световом микроскопе, полутонкий срез (1 мкм), двухслойное окрашивание методом D’Amico; *A* – кожно-мускульный мешок; *B* – кутикула; *C* – выделительный канал (обозначен белыми звездочками), проходящий через боковые гиподермальные валики кожно-мускульного мешка; *D* – кожно-мускульный мешок и кутикула.

Условные обозначения: двусторонняя черная стрелка (*A*) или парная черная стрелка (*D*) – кутикула; односторонняя белая стрелка – гиподерма; двусторонняя белая стрелка – мышечный слой; 1 – внешняя мембрана, или эпикутикула; 2 – внешний корковый слой; 3 – внутренний корковый слой; 4 – однородный, или средний слой; 5 – внешний волокнистый слой; 6 – средний волокнистый слой; 7 – внутренний волокнистый слой; 8 – базальная мембрана; 9 – гиподерма; 10 – мышечный слой, белые звездочки (*D*) – мышечный слой.

Figure 1. Body wall of *Trichostrongylus tenuis* (male): *A–C*: – electron microscopic photographs of ultra-thin sections (50–70 nm) stained by uranyl acetate and lead citrate; *D* – light microscopic photograph of a semi-thin section (1 μm), two-layer staining by D’Amico method. *A* – body wall; *B* – cuticle; *C* – excretory canal (indicated by snowflakes) passing through the lateral hypodermal ridges of the body wall; *D* – body wall.

Designations: two-sided black arrow (*A*) or a pair of black arrows (*D*) – cuticle, one-sided white arrow – hypodermis, two-sided white arrow – muscle layer, 1 – epicuticle, 2 – outer cortical layer, 3 – inner cortical layer, 4 – homogeneous or middle layer, 5 – outer fibrous layer, 6 – middle fibrous layer, 7 – inner fibrous layer, 8 – basement membrane, 9 – hypodermis, 10 – muscle layer, white snowflakes (*D*) – muscle layer.

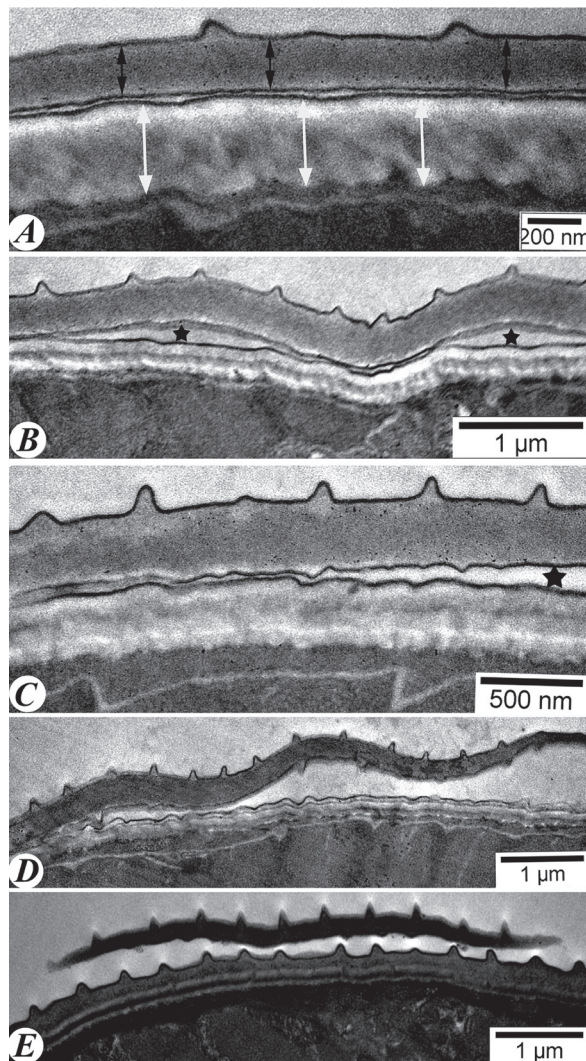


Рисунок 2. Линька личинки 4-й стадии *Trichostrongylus tenuis* (самец) и формирование новой кутикулы у половозрелой особи. Электронно-микроскопические фотографии ультратонких срезов (50–70 нм), окрашенных уранилацетатом и цитратом свинца. *A* – старая кутикула (черная стрелка) и новая кутикула (белая стрелка); *B* и *C* – скопление жидкости между старыми и новыми слоями кутикулы (черная звездочка); *D* – частичное отслоение старой кутикулы; *E* – линька завершена, и новая кутикула полностью сформирована.

Figure 2. Molting of the 4th stage larva (male) and formation of a new cuticle in the adult *Trichostrongylus tenuis*. Electron microscopic photographs of ultra-thin sections (50–70 nm) stained by uranyl acetate and lead citrate *A* – old cuticle (black arrow) and new cuticle (white arrow); *B*, *C* – accumulation of fluid between the old and new layers of the cuticle (black star); *D* – partial detachment of the old cuticle; *E* – molt is completed, and the new cuticle is fully formed.

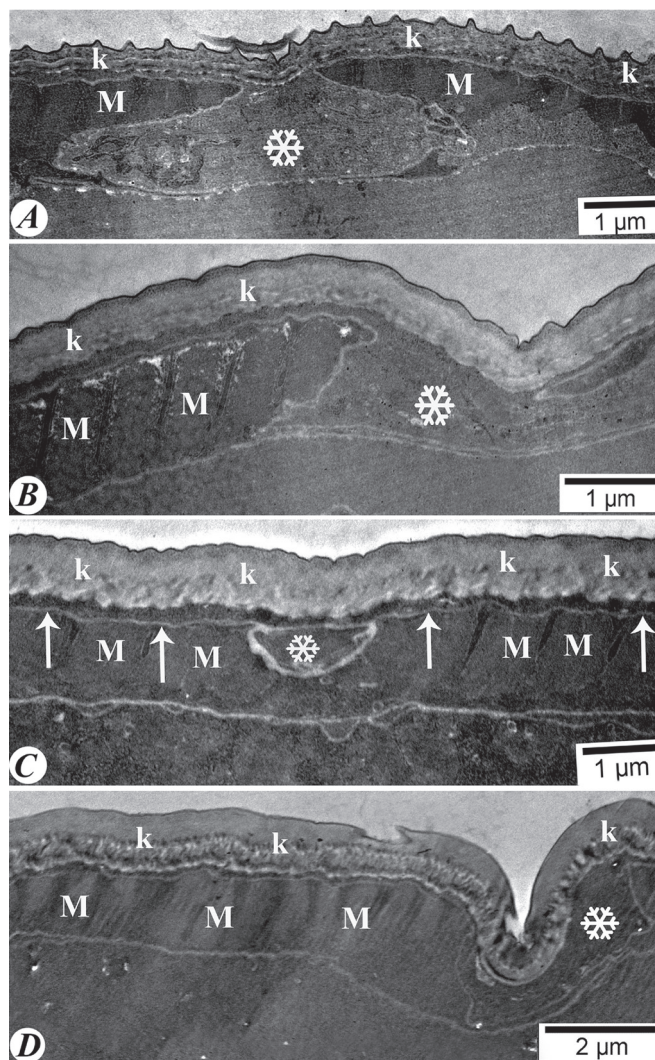


Рисунок 3. Гиподермальные валики *Trichostrongylus tenuis* (самец). Электронно-микроскопические фотографии ультратонких срезов (50–70 нм), окрашенных уранилацетатом и цитратом свинца. *A* и *B* – продольные стволы нервной системы в спинном и брюшном гиподермальных валиках; *C* и *D* – выделительные каналы в боковых гиподермальных валиках. Условные обозначения: *k* – кутикула, *M* – мышечный слой, звездочки – гиподермальные валики.

Figure 3. Hypodermal ridges of *Trichostrongylus tenuis* (male). Electron microscopic photographs of ultra-thin sections (50–70 nm) stained by uranyl acetate and lead citrate. *A*, *B* – longitudinal trunks of the nervous system in the dorsal and abdominal hypodermal ridges; *C*, *D* – excretory canals in the lateral hypodermal ridges. Designations: *k* – cuticle, *M* – muscle layer, snowflakes – hypodermal ridges.

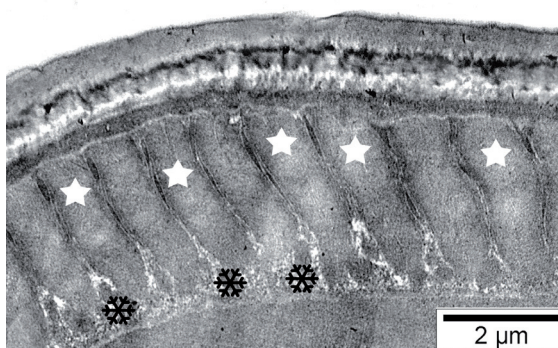


Рисунок 4. Мышечный слой *Trichostrongylus tenuis* (самец). Электронно-микроскопическая фотография ультратонкого среза (50–70 нм), окрашенного уранилацетатом и цитратом свинца. Условные обозначения: белая звездочка – сократимая часть мышечной клетки, черная звездочка – плазматическая часть мышечной клетки.

Figure 4. Muscle layer of *Trichostrongylus tenuis* (male). Electron microscopic photograph of an ultra-thin section (50–70 nm) stained by uranyl acetate and lead citrate. Designations: white asterisk – contractible part of a muscle cell, black asterisk – plasma part of a muscle cell.

Соотношение основных слоев кожно-мышечного мешка: 35.95 % кутикула, 6.35 % гиподерма и 57.7 % мышечный слой; подробные статистические параметры даны в табл. 1.

Таблица 1. Некоторые статистические расчеты кожно-мышечного мешка и каждого из его слоев нематоды *Trichostrongylus tenuis*

Table 1. Some statistical calculations of body wall and its layers from the nematode *Trichostrongylus tenuis*

Параметр	Min (nm)	Max (nm)	$\bar{X}$ средняя (nm)	S стандартное отклонение	$\bar{X} \pm S_x$
Кутикула	616.55	1112.35	874.98	122.56	874.98 ± 15.82
Гиподерма	113.29	199.63	154.38	24.41	154.38 ± 3.15
Мышечный слой	1116.25	1959.03	1403.83	246.71	1403.83 ± 31.85
Кожно-мышечный мешок	2067.75	3099.35	2495.21	289.49	2495.21 ± 37.37

Для каждого параметра $n = 60$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Детальное изучение ультраструктуры кутикулы, гиподермы и мышечных клеток трихостронгирид проводилось некоторыми исследователями (Lee, 1965, 1970; Kenneth, Eric, 1972; Lee, Nicholls, 1983; Martin, Lee, 1983; Wharton, 1986; Beveridge, Durette-Desset, 1994; Neuhaus et al., 1996). Все авторы пришли к единому выводу, что у исследованных нематод (14 видов) кутикула состоит из трех основных слоев (корковый, гомогенный и фибриллярный). Они, в свою очередь, также делятся на несколько слоев. Наши результаты подтверждают это наблюдение. Слои кутикулы нематоды *T. tenuis* и по количеству (8), и по типу идентичны с таковыми *Nematodirus battus* (Crofton et Thomas, 1951), *T. columbriformis* и *Haemonchus placei* (Place, 1893) (Kenneth, Eric, 1972; Martin, Lee, 1983) (табл. 2).

Таблица 2. Сравнительные данные структуры кутикулы трихостронгилидных нематод
Table 2. Comparative data structure of cuticle of trichostrongylide nematodes

Кутикула	Слой	<i>N. battus</i>	<i>T. columbiformis</i>	<i>H. placei</i>	<i>N. brasiliensis</i>	<i>O. dentatum</i>	<i>C. mentulatus</i>	<i>T. tenuis</i>
Число кутикулярных крыльев (гребни) Источники	Корковый слой	Мембрана Внешний корковый Внутренний корковый Гомогенный	Мембрана Внешний корковый Внутренний корковый Гомогенный	Мембрана Внешний корковый Внутренний корковый Гомогенный	Мембрана Корковый Гомогенный Распорки Гомогенный	Мембрана Внешний гомогенный Средний гомогенный Внутренний гомогенный	Мембрана Корковый Гомогенный Распорки Гомогенный	Мембрана Внешний корковый Внутренний корковый Гомогенный
	Фибриллярный слой	Внешний фибрилл. Средний фибрилл. Внутренний фибрилл. Базальная мембрана	Внешний фибрилл. Средний фибрилл. Внутренний фибрилл. Базальная мембрана	Внешний фибрилл. Средний фибрилл. Внутренний фибрилл. Базальная мембрана	Внешний фибрилл. - Внутренний фибрилл. Базальная мембрана	Внешний фибрилл. Средний фибрилл. Внутренний фибрилл. Базальная мембрана	Внешний фибрилл. - Внутренний фибрилл. Базальная мембрана	Внешний фибрилл. Средний фибрилл. Внутренний фибрилл. Базальная мембрана
		2	Нет данных	Нет данных	14	2	4	> 14
		Martin, Lee, 1983	Kenneth, Eric, 1972	Kenneth, Eric, 1972	Lee, 1965, 1970	Neuhaus et al, 1996	Beveridge, Durette-Desset, 1994	Наши данные

При этом ультраструктура кутикулы *T. tenuis* отличается от таковой у ранее изученной трихостронгилидной нематоды *Nippostrongylus brasiliensis* (Travassos, 1914) (Lee, 1965, 1970; Lee, Nicholls, 1983) и еще 8 видов (Beveridge, Durette-Desset, 1994). У некоторых нематод в гомогенном, или среднем слое, который обладает эстеразной активностью (Lee, 1962) и находится между корковым и фибриллярными слоями, присутствуют темные кутикулярные распорки, содержащие тирозин. Эти распорки различаются по форме, количеству и составу (Durette-Desset, 1985). Из изученных нематод они были выявлены на гомогенном слое у *N. brasiliensis*, *Austrostrongylus victoriensis* (Cassone, 1983), *Patricialina birdi* (Humphery-Smith et Durette-Desset, 1981), *Woolleya monodelphis* (Mawson, 1973), *Paraustrostrongylus ratti* (Obendorf, 1979), *Nippostrongylus magnus* (Mawson, 1961), *Odilia bainae* (Beveridge et Durette-Desset, 1992), *Cooperia oncophora* (Railliet, 1898) и *Cameloststrongylus mentulatus* (Railliet et Henry, 1909). Но у *T. tenuis* их нет (рис. 1А, 1В).

На электрограммах видно, что корковый слой кутикулы *T. tenuis* темнее других слоев (рис. 1А). Причиной этого является наличие в данном слое кератина, который защищает паразита от пищеварительного эффекта пепсина и трипсина, присутствующих в кишечнике хозяина. В принципе, у большинства нематод, кроме *Oesophagostomum dentatum* (Rudolphi, 1803), *N. brasiliensis* и *C. mentulatus*, паразитирующих в пищеварительной системе (Lee, 1965, 1970; Neuhaus et al., 1996; Beveridge, Durette-Desset, 1994), имеется два отдела коркового слоя – внешний и внутренний (Богоявленский, 1973; Martin, Lee, 1983; Wright, 1987). Фибриллярные слои кутикулы у исследованных нематод тоже варьируют. У *N. brasiliensis* (Lee, 1965) и *C. mentulatus* (Beveridge, Durette-Desset, 1994) их два, а у *N. battus*, *T. columbriformis*, *H. placei*, *O. dentatum* (Kenneth, Eric, 1972; Martin, Lee, 1983; Neuhaus et al., 1996) и у *T. tenuis* их три (табл. 2).

Кутикулярные крылья (гребни) нематод, и особенно трихостронгилид, постепенно обретают все большее значение в таксономическом и филогенетическом положении паразитов. Они отличаются друг от друга количеством, размером и формой. Например, у нематоды *N. brasiliensis* вдоль всего тела расположено 14 продольных гребней (Lee, 1965), у *C. mentulatus* – 4 (Beveridge, Durette-Desset, 1994), у *N. battus* и *O. dentatum* – всего 2 (Martin, Lee, 1983; Neuhaus et al., 1996), а у *T. tenuis* на передней части тела они отсутствуют, и чем ближе к задней части, тем их больше; морфологически видоизменяясь, они образуют различные зубчатые формы (Rzaev et al., 2020). Кутикулярные гребни у данной нематоды малы по размеру, но по количеству их больше (> 14), чем у других изученных видов (табл. 2).

Электронно-микроскопических работ по изучению линьки трихостронгилидных нематод очень мало. Так, у *N. brasiliensis* было проведено детальное исследование линьки личинки 4-й стадии и формирования кутикулы половозрелой нематоды (Lee, 1970). Сравнивая эти данные с нашими, можно заметить, что кутикулярные гребни у *N. brasiliensis* появляются уже на ранних этапах линьки, а у *T. tenuis* – на последнем, когда старая кутикула полностью отделяется от новой (рис. 2Е).

Гиподерма изучена на ультраструктурном уровне у следующих видов: *N. brasiliensis*, *N. battus*, *T. columbriformis*, *H. placei*, *Ancylostoma duodenale* (Dubini, 1843), *Strongylus edentatus* (Looss, 1900), *S. equinus* (Muller, 1780), *Oesophagostomum columbianum* (Curtice, 1890), *Amidostomum anseris* (Zeder, 1800), *Epomidiostomum orispinum* (Molin, 1861), *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1802), *Mecistocirrus digitatus* (Linstow, 1906), *Ostertagia ostertagi* (Stiles, 1892) и *Dictyocaulus viviparus* (Bloch, 1782) (Lee, 1965; Kenneth, Eric,

1972; Богоявленский, 1973; Martin, Lee, 1983). У всех исследованных нематод, в том числе и у *T. tenuis*, было обнаружено 4 гиподермальных валика (2 латеральных, 1 дорсальный и 1 вентральный). Но митохондрии в гиподерме у нематоды *T. tenuis* более мелкие и их кристы хуже различимы, чем у *N. brasiliensis*.

Ультраструктура мышечного слоя кожно-мышечного мешка трихостронгилид изучена у *N. brasiliensis*, *N. battus*, *T. colubriiformis* и *H. placei* (Lee, 1965; Kenneth, Eric, 1972; Martin, Lee, 1983). Сравнение с нашими данными показывает, что плазматическая часть мышечного слоя у *T. tenuis*, в отличие от этого слоя у других нематод, значительно меньше, чем сократимая.

ВЫВОДЫ

Кутикула *T. tenuis* состоит из восьми различных слоев. В отличие от других изученных нематод, в гомогенном слое этого вида не было выявлено темных кутикулярных распок. Имеющие диагностическое значение кутикулярные гребни малы по размеру, но их количество больше, чем у других видов.

Электронно-микроскопическим методом описано обновление кутикулы личинки 4-й стадии (самец) и формирование новой кутикулы у половозрелой особи *T. tenuis*. Показано, что кутикулярные гребни у *T. tenuis* появляются на последнем этапе линьки, а не на ранних этапах, как у других видов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Богоявленский Ю.К. 1973. Структура и функции покровных тканей паразитических нематод. Москва, Наука, 205 с.
- Дубинина М.Н. 1971. Паразитологическое исследование птиц. Методы паразитологических исследований. Ленинград, Наука, 140 с.
- Рыжиков К.М. 1967. Определитель гельминтов домашних водоплавающих птиц. Москва, Наука, 262 с.
- Сеидбейли М.И. 2018. К изучению гельминтофауны домашних водоплавающих птиц Нахичеванской АР. VI Съезд Паразитологического общества, Санкт-Петербург, Лемма, 215.
- Сеидбейли М.И., Магеррамов С.Г. 2018. Гельминтофауна домашних водоплавающих птиц (гусь – *Anser anser* dom. и утка – *Anas platyrhynchos* dom.) Нахичеванской АР. Вестник Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина, серия «Биология» 31: 107–113.
- Скрябин К.И. 1928. Метод полевых гельминтологических вскрытий позвоночных, включая человека. Москва, Московский государственный университет, 46 с.
- Beveridge I., Durette-Desset M. 1994. Comparative ultrastructure of the cuticle of trichostrongyle nematodes. International Journal for Parasitology 24: 887–898.
- D'Amico F. 2005. A polychromatic staining method for epoxy embedded tissue: a new combination of methylene blue and basic fuchsin for light microscopy. Biotechnic and Histochemistry 80 (5–6): 207–210.
- Durette-Desset M.C. 1985. Trichostrongyloid nematodes and their vertebrate hosts: reconstruction of the phylogeny of a parasitic group. Advances in Parasitology 24: 239–306.
- Issarapong P., Pewpan M., Oranuch S., Penchom J., Tongjit T., Kittisak S., Nimit M., Wanchai M. 2013. Molecular evidence of *Trichostrongylus colubriiformis* and *Trichostrongylus axei* infections in humans from Thailand and Lao PDR. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 89 (2): 376–379.
- Kareem M., Abdel-Rahman B., Mona F., Salma Y. 2014. *Haemonchus longistipes* Railliet & Henry, 1909 (Nematoda, Trichostrongylidae) from the Egyptian dromedary, *Camelus dromedarius* (Artiodactyla: Camelidae), first identification on the basis of light and ultrastructural data. Parasitology Research 113: 4579–4585.
- Kenneth S., Eric H. 1972. The ultrastructure of the adult stage of *Trichostrongylus colubriiformis* and *Haemonchus placei*. Parasitology 64: 173–179.
- Kuo J. 2007. Electron microscopy: methods and protocols. Totowa, Humana Press, 625 pp.
- Lattes S., Ferte H., Delaunay P., Depaquit J., Vassallo M., Vittier M., Kokcha S., Coulibaly E., Marty P. 2011. *Trichostrongylus colubriiformis* nematode infections in humans, France. Emerging Infectious Diseases Journal 17: 1301–1302.

- Lee D.L. 1962. The distribution of esterase enzymes in *Ascaris lumbricoides*. Parasitology 52: 241–260.
- Lee D.L. 1965. The cuticle of adult *Nippostrongylus brasiliensis*. Parasitology 55: 173–181.
- Lee D.L. 1970. Moulting in nematodes: the formation of the adult cuticle during the final moult of *Nippostrongylus brasiliensis*. Tissue and Cell 2: 139–153.
- Lee D.L., Nicholls C.D. 1983. The use of plasma etching to reveal the internal structure of *Nippostrongylus brasiliensis*. Parasitology 86: 477–480.
- Martin J., Lee D.L. 1983. *Nematodirus battus*: structure of the body wall of the adult. Parasitology 86: 481–488.
- Neuhauser B., Bresciani J., Christensen C.M., Frandsen F. 1996. Ultrastructure and development of the body cuticle of *Oesophagostomum dentatum* (Strongylida, Nematoda) 1996. Journal of Parasitology 82 (5): 820–828.
- Rzayev F.H., Seyidbeyli M.I., Maharramov S.H., Gasimov E.K. 2020. Forms and ultrastructural features of the lateral alae of the helminth *Trichostrongylus tenuis* Mehlis, 1846 (Nematoda: Trichostrongylidae). The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University 34: 112–119.
- Sato M., Yoonuan T., Sanguankiat S., Nuamtanong S., Pongvongsa T., Phimmayoi I., Phanhanan V., Boupouha B., Moji K., Waikagul J. 2011. Human *Trichostrongylus colubriformis* infection in a rural village in Laos. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 84: 52–54.
- Seyidbeyli M.I. 2019. Dynamics of the invasion with helminths of domestic waterfowl birds in the regions of Nakhchivan AR. Scientific Works of Azerbaijan State Agrarian University, Ganja 2: 64–73 [In Azerbaijanian].
- Seyidbeyli M.I., Maharramov S.H., Rzayev F.H. 2019. Specificity of helminths and reasons for the similarity of helminth fauna of domestic waterbirds and wild birds in the territory of Nakhchivan AR. Azerbaijan Agrarian Scientific Journal 1: 58–63 [In Azerbaijanian].
- Seyidbeyli M.I., Rzayev F.H. 2018. Helminth fauna of waterfowl poultry in the territory of Babek region of Nakhchivan AR. Journal of Entomology and Zoology Studies 6 (1): 1668–1671.
- Wharton D. 1986. The structure of the cuticle and sheath of the infective juvenile of *Trichostrongylus colubriformis*. Zeitschrift für Parasitenkunde 72: 779–787.
- Wright K. 1987. The nematode's cuticle-its surface and the epidermis: function, homology, analogy-a current consensus. The Journal of Parasitology 73 (6): 1077–1083.

ULTRASTRUCTURAL FEATURES OF THE BODY WALL OF THE HELMINTH *TRICHOSTRONGYLUS TENUIS* (MEHLIS, 1846) (NEMATODA: TRICHOSTRONGYLIDAE)

M. I. Seyidbeyli, F. H. Rzayev, E. K. Gasimov

Key words: nematodes, *Trichostrongylus tenuis*, cuticle, hypodermis, muscle layer, ultrastructure, transmission electron microscope

SUMMARY

The structure of the body wall (cuticle, hypoderm, and muscle layer) of the *Trichostrongylus tenuis* (Mehliss, 1846) (male) nematode from the Trichostrongylidae family, was studied using light and electron microscopy methods at ultrastructural level. It was found that the adult helminth cuticle consists of 8 layers (1 – an outer membrane layer or epicuticle, 2 – outer cortical layer, 3 – inner cortical layer, 4 – homogeneous or middle layer, 5 – outer fibrous, 6 – middle fibrous, 7 – inner fibrous, 8 – basement membrane). Unlike other nematodes, in the homogeneous layer of the *T. tenuis* cuticle, no dark cuticle struts were detected. The cuticular ridges, which are of diagnostic value, in this nematode are small in size but larger in number than in comparison with other studied species. At the ultrastructural level, the renewal of the cuticle (shedding) of the 4th larvae stage (male) helminth is gradually traced and described. The cuticular ridges in *T. tenuis* appear at the last stage of moult, when the old cuticle is completely separated from the new, and not like other similar species, in the early stages. In muscle cells of the *T. tenuis* nematode, the plasma part is less than contractible. The muscle layer, being larger than the other two layers, is 1.6 times thicker than the cuticle and 9.1 times than the hypodermis.

УДК 579.64:632.651

**NEMATICIDAL ACTIVITY OF NEMATODE-SYMBIOTIC BACTERIA
XENORHABDUS BOVIENII AND *X. NEMATOPHILA*
AGAINST ROOT-KNOT NEMATODE *MELOIDOGYNE INCOGNITA***

© 2020 L. G. Danilov, V. G. Kaplin*

All-Russia Institute of Plant Protection,
Pushkin, Saint Petersburg, 196608 Russia

* e-mail: ctenolepisma@mail.ru

Received 21.06.2020

Received in revised form 18.07.2020

Accepted 30.07.2020

The lethal effects of metabolic products produced by the symbiotic bacteria *Xenorhabdus bovienii* from *Steinernema feltiae* and *X. nematophila* from *S. carpocapsae* were tested on *M. incognita* infective juveniles (J2). Treatments had cell titers of 2.5×10^9 , 1.25×10^9 and 0.63×10^9 per ml at 20 °C, 23 °C and 26 °C. Exposure periods were 15 hr, 41 hr, 65 hr and 90 hr immediately after autoclaving and at 23 °C, and exposure periods of 5 hr, 26 hr, 50 hr and 74 hr after storage for 21 days at 4 °C. The effectiveness of bacterial metabolic products immediately after preparation against *M. incognita* (J2) depended on the titer of bacterial cells, the temperature of the culture liquid, and the duration of its exposure to nematodes. Nematicidal activity of *X. bovienii* metabolic products was higher than that of *X. nematophila*. Mortality of *M. incognita* J2 was 92–93 % after 90-hr exposure to *X. bovienii* at 20 °C and cell titers of 2.5×10^9 and 1.25×10^9 ; also after 65 hr exposure at 23 °C, titer of 2.5×10^9 and 95–99 % at 26 °C and all tested titers. The efficacy of cultural liquid of *X. bovienii* metabolic products after storage at 4 °C for 21 days, after its 50 hr exposure to nematodes at 23 °C and cell titers of 2.5×10^9 and 1.25×10^9 and 74 hr exposure at all tested titers remained high at 97–100 %. The easiest way to control of plant pathogenic nematodes would be metabolic products of symbiotic bacteria of *Xenorhabdus*. Our results suggest that the active metabolites of symbiotic bacteria need to be identified for possible synthesis and use in the field.

Key words: entomopathogenic nematodes, symbiotic bacteria, metabolites, efficiency

DOI: 10.31857/S1234567806050041

Among plant-parasite nematodes (PPNs) developing on plant roots, the most economically important are *Meloidogyne* spp. (root-knot nematodes) and cyst nematodes in the family Heteroderidae (Tylenchida). More than 100 species of root-knot nematodes have been described, for which more than 5000 species of host plants are known (Karssen, Moens,

2006; Uribe, 2008). Four *Meloidogyne* spp. (*M. incognita* Kofoid & White, *M. javanica* (Treub), *M. arenaria* Chitwood and *M. hapla* Chitwood) are widespread. These four species account for 95 % of infestations on cultivated land and about 5 % of global crop loss. *M. incognita* accounts for 52 % of reports, *M. javanica* 31 %, *M. arenaria* 8 %, *M. hapla* 7 %, and other species 2 %, from agricultural land areas (Hadisoeganda, Sasser, 1982).

Five species of root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla* and *M. chitwoodi*) are common in the Russian Federation, but *M. incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* are found only in greenhouses. *Meloidogyne hapla* develops in the open ground and in greenhouses. Columbian root-knot nematode (*M. chitwoodi* Golden et al.) is the object of an external quarantine. About 60 % of greenhouses in Russia are contaminated with root-knot nematodes. *Meloidogyne incognita* almost everywhere damages vegetable and ornamental crops in greenhouses and its study is undoubtedly relevant.

Meloidogyne incognita is a cosmopolitan obligate plant-parasite and possesses a wide host range of over 230 plant genera and 3000 species including cotton, tobacco, legumes, vegetable crops, spices, and coffee in tropical and subtropical regions, in particular in the warmer areas (CABI Data Report, CABI, 2017). Estimates of crop losses due to *Meloidogyne* species, mainly *M. incognita* and *M. javanica*, have ranged from 18 % to 33 % for melon and from 24 % to 38 % for tomato (Sasser, 1979), and 25 % or more for potato (Mai et al., 1981). This species is also the main pest of vegetable and ornamental crops in greenhouses in temperate latitudes. In previous studies the minimum temperature threshold for development of *M. incognita* was found to be 10.1 °C. Infective J2 of *M. incognita* become active at soil temperatures of 16–20 °C (Vrain et al., 1978).

Organizational and economic, preventive, selection and seed-growing, physical, agro-technical, biological, chemical and integrated methods are used in greenhouse management of root-knot nematodes. Among these approaches, the most economically justified and environmentally safe are biological methods.

Entomopathogenic nematodes (EPNs) of the genera *Steinernema* Travassos (Steinernematidae) and *Heterorhabditis* Poinar (Heterorhabditidae) in the order Rhabditida include about 70 and 20 species, respectively. They are able to infect the post-embryonic stages of more than 1000 species of pests of agricultural and ornamental crops (Nickle, 1977). Two genera of entomopathogenic bacteria, *Xenorhabdus* Thomas and Poinar and *Photorhabdus* Boemare et al. (Morganellaceae, Enterobacterales), are intimately associated with EPNs. About 20 species of symbiotic gram-negative *Xenorhabdus* are associated with *Steinernema* spp. and 2 species of *Photorhabdus* are associated with *Heterorhabditis* spp. (Poinar, Thomas, 1967; Akhurst, Boemare, 1990; Nguyen et al., 2007). In the process of pathogenesis, bacteria and EPNs secrete proteolytic enzymes that can break down proteins as well as damage components of the host immune complex, causing host death.

In addition to insects, EPNs are also able to suppress the development of phytonematodes (Bird, Bird, 1986; Ishibashi et al., 1986; Lewis, Grewal, 2005; Molina et al., 2007; Kenney, Eleftherianos, 2016). Suppressive effects of EPNs have been observed on various

phytonematodes such as *Belonolaimus longicaudatus* Rau, *Criconemoides* spp. (Grewal et al., 1997) and *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens (Perry et al., 1998). However, the most stable suppression was observed in species of *Meloidogyne* Göldi (Lewis et al., 2005). *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* can be successfully used to regulate the density of root-knot nematodes. This effect was studied on culture filtrates of *Xenorhabdus nematophila* (Poinar et al.) and *X. bovienii* Akhurst and Boemare from *Steinernema carpocapsae* (Weiser) and *S. feltiae* Filipjev, respectively (Grewal et al., 1997). The culture fluids of these bacteria showed nematocidal properties, causing the death of 98–100 % of *M. incognita* infective juveniles (J2). The selective nematocidal ability of *Xenorhabdus* against root-knot nematodes has been confirmed by many researchers (Paul et al., 1981; Burman, 1982; Richardson et al., 1988; Pérez, Lewis, 2002). When tomato plants were immersed in culture liquid of *X. bovienii*, *M. incognita* egg production was suppressed and plants were taller compared to infected but untreated plants in the control (Pérez, Lewis, 2002; Kepenecki et al., 2016). Bowen and Ensign (1998) suggested that it would be appropriate to use toxins derived from liquid suspensions of the bacterial symbiont for plant protection. Antibiotic compounds produced by different species and strains of *Xenorhabdus* can differ significantly in quality indicators, which also depend on the nutrient medium composition, temperature and conditions of their cultivation. In the process of studying the nematocidal activity of metabolites produced by symbiotic *Xenorhabdus*, the prospects of work in this direction were enhanced (Hu et al., 1999; Nour El-Din et al., 2014).

The aim of our research was to study the nematocidal activity of the symbiotic bacteria *Xenorhabdus bovienii* (*S. carpocapsae*) and *X. nematophila* (*S. feltiae*), respectively, *in vitro* at different exposure times, temperatures and densities of bacterial cells in the nutrient medium and storage of cultural liquid, against *M. incognita* J2.

MATERIALS AND METHODS

The research was carried out in the Laboratory of Microbiology of the All-Russian Institute of Plant Protection. *Xenorhabdus nematophila* and *X. bovienii* were obtained from the cadavers of greater wax moth larvae (*Galleria mellonella* L.) infected with dauer juveniles of *Steinernema carpocapsae* strain “Agriotos” and *S. feltiae* strain RP18-91, respectively, and stored in distilled water at 5–7 °C. Ten mature larvae were placed in a Petri dish on two layers of filter paper, on the surface of which about 500 dauers were introduced in 1 ml of distilled water. After three days of incubation, the cadavers were superficially sterilized in 70 % ethanol for 2 min and placed for drying in a laminar air stream for 3 min. A drop of hemolymph was extracted from the larval proleg and transferred to Petri dishes on NBTA nutrient medium containing per liter: 0.5 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; 0.5 g K_2HPO_4 ; 0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$; 5 g NaCl; 5 g yeast extract; 12 g agar; 25 mg bromothymol blue and 40 mg dimethyltetrazolium chloride. Cultures were incubated at 26 °C. After 72 hr, one pure colony of green symbiotic bacteria was selected from colonies of the same size and morphology. The identification of the primary forms of symbiotic bacteria was performed by the method of Akhurst (1980). Subcultivation continued until bacterial colonies of the same size and morphology were obtained. The pathogenicity of isolates was confirmed by injection of bacterial cells into *G. mellonella* larvae and transfer

of hemolymph of infected larvae to NBTA in Petri dishes. Clean colonies of bacteria were transferred to tubes on slants with NBTA nutrient medium and grown for 3–4 days at 26 °C. A smear of bacteria was taken from the slant using a bacterial loop and transferred into flasks with 100 ml of nutrient broth and grown on a shaker at 150 revolutions per minute for 2 days at 26 °C before a titer of $\sim 2.5 \times 10^9$ bacterial cells per ml. Beginning with the initial titer of 2.5×10^9 cells, lower concentrations of cells were obtained by doubling the culture liquid with sterile water to obtain titers of 1.25×10^9 and 0.63×10^9 cells per ml. The resulting culture liquids with titers of $\sim 2.5 \times 10^9$, 1.25×10^9 and 0.63×10^9 cells per ml were autoclaved at a temperature of 121 °C, pressure of 1 atmosphere for 30 min and used to study the pathogenicity of the metabolic products of symbiotic bacteria against *M. incognita* J2. As known, *Xenorhabdus nematophila* and other symbiotic bacteria produce both heat-labile and heat-stable toxins, enzymes and antimicrobials. Their heat-stable components are active after heat sterilization and can be used against different species of bacteria and pests (Inman, Holmes, 2012).

Evaluation of the effectiveness of these inocula against J2 was tested immediately after preparation at temperatures of 20 °C, 23 °C and 26 °C and at 23 °C following their storage at 4 °C for 21 days (tables 1–3). Evaluation of the effectiveness of freshly obtained inocula was determined after 15, 41, 65 and 90 hr, and of stored inocula after 5, 26, 50 and 74 hr.

Table 1. Effect of metabolic products of *Xenorhabdus bovienii* on mortality of *Meloidogyne incognita* J2, in vitro

The titer of bacterial cells ($n \times \text{ml}^{-1}$)	The death of larvae at the exposure, hours (%)			
	15	41	65	90
20 °C				
2.5×10^9	15.0 ± 0.7	28.3 ± 1.4	62.0 ± 1.2	92.3 ± 1.1
1.25×10^9	8.5 ± 0.6	19.8 ± 3.1	46.8 ± 2.5	93.0 ± 2.5
0.63×10^9	1.8 ± 0.6	5.0 ± 0.7	21.0 ± 3.1	65.0 ± 3.7
$LSD_{0.05}$ (titer)	2.6	7.8	9.3	10.4
$LSD_{0.05}$ (titer + control)	1.1	3.4	4.1	4.6
Control (water)	0 ± 0	0.75 ± 0.25	1.75 ± 1.25	3.00 ± 0.41
23 °C				
2.5×10^9	22.2 ± 1.2	63.5 ± 1.7	91.8 ± 2.8	No data
1.25×10^9	18.2 ± 0.6	47.0 ± 1.4	82.0 ± 1.5	
0.63×10^9	6.2 ± 0.9	24.5 ± 2.4	56.5 ± 1.3	
$LSD_{0.05}$ (titer)	3.7	7.3	7.7	
$LSD_{0.05}$ (titer + control)	1.7	3.3	3.4	
Control (water)	1.25 ± 0.25	2.00 ± 0.41	2.25 ± 0.48	
26 °C				
2.5×10^9	2.5 ± 1.0	47.0 ± 1.5	99.5 ± 0.5	No data
1.25×10^9	0.8 ± 0.5	37.0 ± 1.1	98.8 ± 1.3	
0.63×10^9	1.0 ± 0.6	15.0 ± 0.8	97.5 ± 2.5	
$LSD_{0.05}$ (titer)	2.9	4.5	6.4	
$LSD_{0.05}$ (titer + control)	2.8	4.3	2.9	
Control (water)	0.80 ± 0.25	1.25 ± 0.25	2.25 ± 0.25	

Table 2. Effect of metabolic products of *Xenorhabdus nematophila* on the mortality of *Meloidogyne incognita* J2, in vitro

Bacterial cell titer per ml	The death of larvae at the exposure, hours (%)			
	15	41	65	90
20 °C				
2.5×10^9	11.8 ± 0.6	22.3 ± 1.7	47.8 ± 1.2	88.0 ± 2.8
1.25×10^9	11.3 ± 1.4	20.5 ± 0.9	24.8 ± 0.6	94.0 ± 1.5
0.63×10^9	1.3 ± 0.5	4.0 ± 0.4	8.3 ± 1.1	49.8 ± 3.8
$LSD_{0.05}$ (titer)	3.7	4.3	3.9	11.2
$LSD_{0.05}$ (titer + control)	1.6	1.9	1.8	4.6
Control (water)	0 ± 0	0.75 ± 0.25	1.75 ± 1.25	3.00 ± 0.41
23 °C				
2.5×10^9	20.2 ± 1.1	57.8 ± 1.7	81.5 ± 1.3	No data
1.25×10^9	22.2 ± 0.6	28.8 ± 0.9	38.3 ± 1.3	
0.63×10^9	4.0 ± 0.7	11.8 ± 1.3	24.5 ± 2.5	
$LSD_{0.05}$ (titer)	3.3	5.1	7.0	
$LSD_{0.05}$ (titer + control)	1.5	2.3	3.1	
Control (water)	1.25 ± 0.25	2.00 ± 0.41	2.25 ± 0.48	
26 °C				
2.5×10^9	1.5 ± 0.6	35.5 ± 1.6	99.0 ± 0.6	No data
1.25×10^9	1.8 ± 0.6	20.5 ± 1.0	95.3 ± 2.8	
0.63×10^9	0.8 ± 0.5	12.0 ± 1.3	82.0 ± 1.5	
$LSD_{0.05}$ (titer)	2.3	5.1	7.2	
$LSD_{0.05}$ (titer + control)	2.3	5.0	3.2	
Control (water)	0.80 ± 0.25	1.25 ± 0.25	2.25 ± 0.25	

Table 3. Effect of temperature and storage duration (21 days at 4 °C) of metabolic products of symbiotic bacteria *Xenorhabdus bovienii* of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* SRP18-91 on death of invasive larvae of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* at 23 °C, in vitro

The titer of bacterial cells (n × ml ⁻¹)	The death of larvae at the exposure, hours (%)			
	5	26	50	74
No storage				
2.5 × 10 ⁹	1.2 ± 0.6	55.0 ± 5.9	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0
1.25 × 10 ⁹	4.2 ± 1.3	54.8 ± 2.7	97.0 ± 2.7	100.0 ± 0.0
0.63 × 10 ⁹	0	16.8 ± 1.7	76.3 ± 1.7	99.8 ± 0.3
LSD _{0.05} (titer)	3.2	16.7	7.2	0.6
LSD _{0.05} (titer + control)	1.4	7.4	3.2	1.2
With storage (21 days at 4 °C)				
2.5 × 10 ⁹	0.7 ± 0.8	36.0 ± 2.5	94.5 ± 2.4	99.0 ± 0.6
1.25 × 10 ⁹	0	16.5 ± 2.1	82.5 ± 1.8	97.3 ± 2.8
0.63 × 10 ⁹	0	13.3 ± 2.0	70.0 ± 3.9	99.8 ± 0.3
LSD _{0.05} (titer)	1.7	8.7	11.1	6.4
LSD _{0.05} (titer + control)	0.8	3.9	4.9	3.1
Control (water)	0	0.75 ± 0.25	2.75 ± 0.25	7.5 ± 1.2

Root-knot J2 were obtained from a pure culture of *M. incognita* propagated on tomato plants. Eggs were obtained by collecting galls from the affected tomato plants, washing them in water and grinding them in 0.5 % sodium hypochlorite solution. Eggs were placed in Baermann funnels for hatching and collection of J2 (Baermann, 1917).

Effects of bacterial metabolic products (three titers) on J2 were studied in Petri dishes. In the experiments, 2 ml of culture liquid was introduced into each Petri dish, while control dishes received 2 ml of tap water. Each dish received J2. All experiments were replicated four times. Density of live and dead J2 were determined. Alive larvae actively move in a liquid environment, the dead lie in the form of sticks and when they are touched with the tip of a preparaval needle, they remain lying without signs of activity, while live larvae always respond with activity when tactile action is applied to their body. Statistical treatment of the obtained data was carried out with Microsoft Excel and Sigma Plot 12.0 programs. Biological efficiency was calculated by Abbott's formula: $C = (A-B) \cdot A^{-1} \cdot 100 \%$, where A = J2 density before exposure, B = density of still alive larvae after exposure, and C = biological efficiency, if their natural mortality in the control did not exceed 5 %.

RESULTS

The metabolic products of symbiotic bacteria of the genus *Xenorhabdus* were obtained by culturing them using nutrient broth with NBTa for 2 days at 26 °C before a titer of $\sim 2.5 \times 10^9$ bacterial cells per ml, followed by doubling the part of culture liquid with sterile water to titers of 1.25×10^9 and 0.63×10^9 cells per ml and autoclaving all received liquids.

Regression analysis of the efficiency of the metabolic products of *X. bovienii* and *X. nematophila* on the density of bacterial cells showed a linear or binomial dependence between them, with an R^2_1 of 0.48–0.97 and a correlation coefficient (r) of 0.70–0.98.

In laboratory conditions, the effectiveness of the bacterial metabolic products immediately after preparation against infective juveniles (J2) of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* depended on the titer of bacterial cells, the temperature of the culture liquid, and the duration of its exposure to nematodes. In experiments with *X. bovienii* at titers of 0.63×10^9 , 1.25×10^9 , 2.5×10^9 bacterial cells per ml and on average, it was higher 1.4, 1.2, 1.05, and 1.2 times as in experiments with *X. nematophila*, respectively (tables 1–3).

Increasing the temperature and titer of the tested culture liquid contributed to faster growth of the efficacy of bacterial metabolic products against J2 of root-knot nematode, especially in experiments with *X. bovienii*. At 20 °C, the maximum increase of efficiency of metabolic products was observed in *X. bovienii* at all tested titers after 65 hr, in *X. nematophila* with titers of 0.63×10^9 and 1.25×10^9 cells per ml after 90 hr, and 2.5×10^9 after 65 hr. At 23 °C for all titers *X. bovienii* and *X. nematophila* showed the greatest increase of efficiency after 41 hr, and at 26 °C after less than 40 hr.

Comparison of efficiency of products of metabolism of bacteria at 23 °C, used against larvae of root-knot nematode directly after their production and after storage at 4 °C for 21 days showed that they differed slightly. At an exposure of 26 hr, the efficiency of the metabolic products of bacteria stored for 21 days was of 1.5–3.3 times, 50 hr was of 1.1–1.2 times lower, compared with the efficiency of their use immediately after production. However, at the exposure of 74 hr, they did not differ and amounted to 97–100 % regardless of the titer.

The results of the research indicate the possibility of using symbiotic bacteria of EPNs in the protection of vegetable crops in greenhouses against root-knot nematodes. *Xenorhabdus bovienii* appears to be especially promising. At a temperature of 20 °C and an exposure of 90 hr, J2 mortality was more than 90 %. Increasing temperatures above 20 °C may result in 99 % mortality after an exposure of 65 hr. Mortality of J2 was significantly increased by metabolites of two tested species of symbiotic bacteria at temperatures of 23 °C and 26 °C. The highest efficacy was observed with *X. bovienii* metabolites at 26 °C for all tested titers fluid (97.5–99.5 %).

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

The entomopathogenic nematodes (EPN), *Steinernema carpocapsae* and *S. feltiae* are found on all continents of the Earth, except Antarctica (CABI Data Report. CABI, 2020). They are symbiotically associated with the bacteria *Xenorhabdus nematophila* and *X. bovienii*. These symbiotic bacterial-parasitic complexes are used as biological control agents against a wide variety of insect pests in agriculture and horticulture. Temperature is an important factor affecting both EPNs and their symbiotic bacteria. Optimum temperatures for infection and reproduction of *Steinernema carpocapsae* and *S. feltiae* is ranging from 22 °C to 28 °C and from 20 °C to 25 °C, respectively. Optimal culture temperature for both nematode species is 25 °C (Hirao, Ehlers, 2009). *Steinernema carpocapsae* is more sensitive to suboptimal temperature than *S. feltiae*. Development of *S. carpocapsae* does not occur at temperatures lower than 10 °C. Hazir *et al.* (2001) determined that the lowest temperature for *S. feltiae* infection and reproduction was 8 °C while the highest was 25 °C. *Steinernema feltiae* seems to be a better fit for temperatures expected in northern climates (Sharmila *et al.*, 2018). In the northern part of Russia (Yakutia) *S. feltiae protense* is able to infect the insect host at a temperature of 6 °C, while the most optimal development of this nematode in the insect host occurs at 18 °C to 23 °C (Ivanova *et al.*, 2001).

Suppressive effects of *Steinernema feltiae* (strain SN) and *S. riobrave* (Cabanillas *et al.*) (strain 7–12) applied as infective juveniles against *Meloidogyne partityla* Kleynhans, as well as application of the *S. feltiae* bacterial symbiont *Xenorhabdus bovienii*, were investigated in greenhouse trials (Shapiro-Ilan *et al.*, 2006). Treatments were applied to pecan nut seedlings (*Carya illinoensis*) that were simultaneously infested with *M. partityla* eggs. Four months after initial treatment dry root weight was higher in the *S. feltiae*-infested host treatment than in the control (approximately 80 % increase).

Application of *Sterneinema pakistanese* Shahina *et al.* for suppression of *M. incognita* on tomato was investigated in Pakistan in a greenhouse at 27–35 °C. One-month-old tomato plants were transplanted into soil in 200-ml plastic pots. *Steinernema pakistanese* was applied at rates of 1250, 2500 or 5000 invasive juveniles per pot at the same time as *M. incognita*, at a rate of 1500 J2 per pot. Root systems were harvested 35 days after infestation. Egg mass densities per root system were decreased 29 %, 34 % and 59 % at the 1250, 2500 and 5000 *S. pakistanense* treatments, respectively. At the 2500 rate, of *S. pakistanese* root and shoot weight increased 12.5 % and 8.5 %, respectively (Khan, Javed, 2018).

The first report of the possible antagonistic relationship between plant-parasite nematodes (PPNs) and entomopathogenic nematodes (EPNs), resulting in reduced population densities of PPNs, was published by Ishibashi, Kondo (1986). One possible explanation was that both EPNs and PPNs were attracted to root tips, but as EPNs are larger and more active they could colonize them faster, preventing PPNs invasion and reproduction (Bird, Bird, 1986). A later hypothesis was that a compound produced by symbiotic bacteria living inside EPNs was toxic to PPNs (Lewis et al., 2001). Neither of these ideas (root surface competition, bacterial products) proved to be correct. Application of dead EPNs along with dead bacteria still reduced PPNs population density (Jagdale et al., 2002). The easiest way to control PPNs would be metabolic products of symbiotic bacteria of EPNs. Our results suggest that the active metabolites of symbiotic bacteria need to be identified for possible synthesis and use in the field.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Prof., Dr. Ernest C. Bernard from University of Tennessee (USA) for reading and editing the article, as well as for valuable comments and suggestions when preparing it for publication.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

REFERENCES

- Akhurst R.J. 1980. Morphological and functional dimorphism in *Xenorhabdus* spp. bacteria symbiotically associated with the insect pathogenic nematodes *Neoplectana* and *Heterorhabditis*. *Journal of General Microbiology* 121 (2): 303–309. <https://doi.org/10.1099/00221287-121-2-303>
- Akhurst R., Boemare N.E. 1990. Biology and taxonomy of *Xenorhabdus*. In: Gaugler R., Kaya H.K. (eds). *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. Boca Raton, CRC Press, Florida, 75–87.
- Baermann G. 1917. Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomum-(Nematoden) larven in Erdproben. *Mededeel mit H. Geneesk. Laboratorien Weltevreden, Feestbundel, Batavia*: 41–47.
- Bird A.F., Bird J. 1986. Observations on the use of insect parasitic nematodes as a means of biological control of root-knot nematodes. *International Journal for Parasitology* 16 (5): 511–516. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(86\)90086-X](https://doi.org/10.1016/0020-7519(86)90086-X)
- Bowen D.J., Ensing J.C. 1998. Purification and characterization of a high-molecular-weight insecticidal protein complex produced by the entomopathogenic bacterium *Photorhabdus luminescens*. *Applied and Environmental Microbiology* 64 (8): 3029–3035.
- Burman M. 1982. *Neoplectana carpocapsae*: A toxin production by axenic insect parasitic nematodes. *Nematologica* 28: 62–70.
- CABI Data Report; CABI. 2017. *Meloidogyne incognita* (root-knot nematode). In: *Invasive Species Compendium* (Wallingford, UK: CAB International). Available online at: www.cabi.org/isc/datasheet/33245
- CABI Data Report; CABI. 2020. *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema feltiae*. In: *Invasive Species Compendium* (Wallingford, UK: CAB International). Available online at: www.cabi.org/isc/datasheet/51706, 51707
- Grewal P.S., Martin W.R., Miller R.W., Lewis E.E. 1997. Suppression of plant-parasitic nematode populations in turfgrass by application of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology* 7: 393–399. <https://doi.org/10.1080/09583159730802>
- Hadisoeganda W.W., Sasser J.N. 1982. Resistance of tomato, bean, southern pea, and garden pea cultivars to root-knot nematodes based on host suitability. *Plant Disease* 66: 145–150.

- Hazir S., Stock S.P., Kaya H.K., Koppenhöfer A.M., Keskin N. 2001. Developmental temperature effects on five geographic Isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 77: 243–250. <https://doi.org/10.1006/jipa.2001.5029>
- Hirao A., Ehlers R.-U. 2009. Effect of temperature on the development of *Steinernema carpocapsae* and *Steinernema feltiae* (Nematoda: Rhabditida) in liquid culture. *Applied Microbiology and Biotechnology* 84 (6): 1061–1067. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2035-3>
- Hu K.J., Li J.X., Webster J.M. 1999. Nematicidal metabolites produced by *Photorhabdus luminescens* (Enterobacteriaceae), bacterial symbiont of entomopathogenic nematodes. *Nematology* 1: 457–469. <https://doi.org/10.1163/156854199508469>
- Inman F.L., Holmes L. 2012. Effect of heat sterilization on the bioactivity of antibacterial metabolites secreted by *Xenorhabdus nematophila*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 15 (20): 997–1000. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2012.997.1000>
- Ishibashi N., Kondo E. 1986. *Steinernema feltiae* (DD-136) and *S. glaseri*: Persistence in soil and bark compost and their influence on native nematodes. *Journal of Nematology* 18: 310–316.
- Ivanova T.S., Danilov L.G., Ivakhnenko O.A. 2001. New subspecies of entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae protense* subsp. n. (Nematoda: Steinernematidae) from Yakutia. *Parasitology* 35 (4): 333–337. [In Russian]
- Jagdale G.B., Somasekar N., Grewal P.S., Klein M.G. 2002. Suppression of plant-parasitic nematodes by application of live and dead infective juveniles of an entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*, on boxwood (*Buxus* spp.). *Biological Control* 4: 42–49.
- Karssen G., Moens M. 2006. Root-knot nematodes. In: Perry R.N., Moens M. (eds). *Plant nematology*. Wallingford, UK, CABI, 59–90.
- Kenney E., Eleftherianos I. 2016. Entomopathogenic and plant pathogenic nematodes as opposing forces in agriculture. *International Journal for Parasitology* 46: 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.09.005>
- Kepeneci I., Hazir S., Lewis E.E. 2016. Evaluation of entomopathogenic nematodes and the supernatants of the in vitro culture medium of their mutualistic bacteria for the control of the root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria*. *Pest Management Science* 72 (2): 327–334. <https://doi.org/10.1002/ps.3998>
- Khan Y.S., Javed N. 2018. Entomopathogenic nematodes survey, persistence in soil, reproductive potential and their effects on *Meloidogyne incognita*. *Egyptian Journal of Agronomy* 17 (2): 109–120.
- Lewis E.E., Grewal P.S. 2005. Interactions with plant-parasitic nematodes. In: Grewal P.S., Ehlers R., Shapiro-Ilan D. (eds). *Nematodes as biocontrol agents*. New York, USA, CABI, 349–362.
- Lewis E.E., Grewal P.S., Sardanelli S. 2001. Interactions between the *Steinernema feltiae*-*Xenorhabdus bovienii* Insect Pathogen Complex and the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita*. *Biological Control* 21: 55–62. <https://doi.org/10.1006/bcon.2001.0918>
- Mai W.F., Brodie B.B., Harrison M.B., Jatala P. 1981. Nematodes. In: Hooker W.J. (ed.). *Compendium of Potato Diseases*. American Phytopathological Society, 93–101.
- Molina J.P., Dolinski C., Souza R.M., Lewis E.E. 2007. Effect of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) on *Meloidogyne mayaguensis* Rammah and Hirschmann (Tylenchida: Meloidoginidae) infection in tomato plants. *Journal of Nematology* 39 (4): 338–342.
- Nguyen K.B., Stuart R.J., Andalo V., Gozel U., Rogers M.E. 2007. *Steinernema texanum* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Texas, USA. *Nematology* 9 (3): 379–396.
- Nickle W.R. 1977. Taxonomy of nematodes that parasitize insects, and their use as biological control agents. In: Romberger J.A. (ed.). *Biosystematics in Agriculture. Symposium Proceeding (Beltsville symposia II in agricultural research, 9–11 May 1977)*, 37–51.
- Nour El-Deen A., Cseh H.E., Darwesh H.Y. 2014. Evaluation of certain Hungarian plant extracts for their nematicidal properties against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* in-vitro. *International Journal of Advanced Research* 2 (8): 443–448.
- Paul V.J., Frautschy S., Fenical W., Nealon K.H. 1981. Antibiotics in microbial ecology. Isolation and structure assignment of several new antibacterial compounds from the insect-symbiotic bacteria *Xenorhabdus* spp. *Journal of Chemical Ecology* 7: 589–597. <https://doi.org/10.1007/BF00987707>
- Perez E.E., Lewis E.E. 2002. Use of entomopathogenic nematodes to suppress *Meloidogyne incognita* on greenhouse tomatoes. *Journal of Nematology* 34: 171–174.

- Perry R.N., Hominick W.M., Beane J., Briscoe B. 1998. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae* and *S. carpocapsae*, on the potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, in pot trials. *Biocontrol Science and Technology* 8: 175–180.
- Poinar G.O., Thomas G.M. 1967. The nature of *Achromobacter nematophilus* as an insect pathogen. *Journal of Invertebrate Pathology* 9 (4): 510–514. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(67\)90131-0](https://doi.org/10.1016/0022-2011(67)90131-0)
- Richardson W.H., Schmidt T.M., Nealson K.H. 1988. Identification of an anthraquinone pigment and ahydroxystilbene antibiotic from *Xenorhabdus luminescens*. *Applied and Environmental Microbiology* 54: 1602–1605.
- Sasser J.N. 1979. Economic importance of *Meloidogyne* in tropical countries. In: Lamberti F., Taylor C.E. (eds). *Root-knot nematodes (Meloidogyne species). Systematics, Biology and Control*. London, UK, Academic Press, 359–374.
- Shapiro-Ilan D.I., Nyczepir A.P., Lewis E.E. 2006. Entomopathogenic nematodes and bacteria applications for control of the pecan root-knot nematode, *Meloidogyne partityla*, in the greenhouse. *Journal of Nematology* 38 (4): 449–454.
- Sharmila R., Priya M.S., Subramanian S., Poornima K., Pandiyan M. 2018. Review on ecology of entomopathogenic nematodes. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 6 (4): 1086–1093.
- Vrain T. G., Barker K., Holtzman G. 1978. Influence of low temperature on rate of development of *Meloidogyne incognita* and *M. hapla* larvae. *Journal of Nematology* 10: 166–171.
- Uribe G.E.M. 2008. Biodiversity of phytoparasitic nematodes associated with Musaceae and fruit crops in Colombia. Thesis submitted in fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (Biology). Ghent University, Belgium, 209 pp.

НЕМАТИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ СИМБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ *XENORHABDUS BOVIENII* И *X. NEMATOPHILA* ПРОТИВ КОРНЕВОЙ ГАЛЛОВОЙ НЕМАТОДЫ *MELOIDOGYNE INCOGNITA*

Л. Г. Данилов, В. Г. Каплин*

Ключевые слова: энтомопатогенные нематоды, симбиотические бактерии, метаболиты, эффективность

РЕЗЮМЕ

Эффективность продуктов метаболизма, продуцируемых симбиотическими бактериями *Xenorhabdus bovienii* (*Steinernema feltiae*) и *X. nematophila* (*S. carpocapsae*), против инвазионных личинок 2-го возраста *M. incognita* (J2) была испытана в лабораторных условиях при температуре 20 °C, 23 °C и 26 °C сразу после получения и автоклавирования с экспозицией 41, 65 и 90 ч, а также при температуре 23 °C после хранения в течение 21 дня при 4 °C с экспозицией 26, 50 и 74 ч с титрами бактериальных клеток 2.5×10^9 , 1.25×10^9 и 0.63×10^9 /мл. Эффективность продуктов метаболизма бактерий сразу после их получения против *M. incognita* (J2) зависела от титра бактериальных клеток, температуры культуральной жидкости и продолжительности ее воздействия на нематод. Нематицидная активность продуктов обмена веществ *X. bovienii* была выше, чем *X. nematophila*. В опытах с *X. bovienii* гибель *M. incognita* (J2) составляла 92–93 % после их 90-часового воздействия на нематод при 20 °C и титрах 2.5×10^9 и 1.25×10^9 ; 65-часового воздействия при 23 °C и титре 2.5×10^9 ; 98–99 %, при 26 °C и всех испытанных титрах. Эффективность культуральной жидкости *X. bovienii* после хранения при 4 °C в течение 21 дня при 23 °C после ее 50-часового воздействия на нематод и титрах 2.5×10^9 и 1.25×10^9 и после 74-часового воздействия при всех испытанных титрах составляла 97–100 %. Продукты метаболизма симбиотических бактерий рода *Xenorhabdus* против корневых галловых нематод показали высокую эффективность, они нуждаются в идентификации для возможного синтеза и использования в полевых условиях.

УДК 591.69:597.551.2

**ПАРАЗИТЫ АЛТАЙСКОГО ОСМАНА
OREOLEUCISCUS SP. (CYPRINIFORMES, CYPRINIDAE)
В ОЗЕРЕ ТОРЕ-ХОЛЬ (УБСУНУРСКАЯ КОТЛОВИНА, ТЫВА)**

© 2020 г. Ж. Н. Дугаров ^{а,*}, Т. Г. Бурдуковская ^а, Т. Р. Хамнуева ^а,
Д. Р. Балданова ^а, А. Н. Куксин ^б

^а Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН,
ул. Сахьяновой, 6, Улан-Удэ, 670047 Россия

^б Государственный природный биосферный заповедник «Убсунурская котловина»,
ул. Шагонарская, 64, Кызыл, 667010 Россия

* e-mail: zhar-dug@biol.bsnet.ru

Поступила в редакцию 19.06.2020 г.

После доработки 03.08.2020 г.

Принята к печати 06.08.2020 г.

Проведено исследование фауны паразитов алтайского османа *Oreoleuciscus* sp. в оз. Торе-Холь (Убсунурская котловина, Тыва). Выявлено 16 видов паразитов из 8 таксономических групп: Kinetoplastea – *Trypanosoma* sp., *Cryptobia* sp.; Peritrichia – *Trichodina intermedia*, *Trichodinella epizootica*; Monogenea – *Dactylogyrus phoxini*, *Gyrodactylus nordmanni*; Cestoda – *Paradilepis scolecina*; Trematoda – *Allocreadium transversale*, *Diplostomum gasterostei*, *Tylodelphys clavata*, *T. craniaria*; Nematoda – *Contracaecum osculatum*, *Rhabdochona denudata*, *Pseudocapillaria tomentosa*; Acanthocephala – *Neoechinorhynchus rutili*; Hydrachnidia – *Porohalacarus hydrachnoides*.

Ключевые слова: алтайские османы, род *Oreoleuciscus*, паразиты, оз. Торе-Холь, Убсунурская котловина, Тыва

DOI: 10.31857/S1234567806050053

Ареал алтайских османов рода *Oreoleuciscus* Wapachowski, 1889, эндемичных рыб Центральной Азии, включает водоемы, находящиеся на территории Монголии, а также на сопредельной с Монголией территории России – в Тыве и на Алтае. Алтайские османы остаются постоянным объектом интенсивных и разносторонних исследований (Дгебуадзе, 2001; Дгебуадзе и др., 2008; Слынько, Дгебуадзе, 2009; Батищева и др., 2011; Мироновский и др., 2014; Дгебуадзе и др., 2017; Мироновский и др., 2018; Мироновский и др., 2019). Высокая пластичность морфологических признаков, способность к симпатрической внутривидовой диверсификации и эволюционная молодость группы крайне затрудняют ситуацию с таксономической структурой рода *Oreoleuciscus* и оставляют на данном этапе открытым вопрос о видовом статусе алтайского османа из оз. Торе-Холь, которого мы называем *Oreoleuciscus* sp.

Первые данные по паразитам алтайского османа *O. humilis* получены 306-й Союзной гельминтологической экспедицией Академии наук СССР (1956–1957 гг.) на территории тогдашней Тувинской автономной области (Спасский и др., 1958; Спасский, Ройтман, 1960а). Позже изучались паразиты алтайских османов в водоемах Убсунурской котловины и в озерно-речной системе рек Ховд (Кобдо) и Завхан (Дзобхан, Дзапхын) с бассейном оз. Урэг-Нур (Россия и Западная Монголия) (Гундризер, 1967, 1976, 1980), а также в озерах Центрально-Азиатского внутреннего бессточного бассейна (Монголия) (Трофименко, Пэрэнлэйжамц, 1978; Аникиева и др., 1987; Пэрэнлэйжамц, 1993; Пугачев, 1999). В 2000-х годах проведено исследование видового состава паразитов алтайского османа *O. humilis* в двух водных объектах Монголии: оз. Уст-Нур (бассейн р. Селенги в ее среднем течении) и р. Туин-Гол (Долина Озер) (Батуева, 2011).

Цель данной работы – установление видового состава паразитов *Oreoleuciscus* sp. в оз. Торе-Холь.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Озеро Торе-Холь – пресноводное, не имеющее наземного стока, озеро на юге Тувы, на границе с Монголией, расположенное в Убсунурской котловине. Площадь зеркала российской части озера – около 35 км², монгольской – 7 км². Озеро Торе-Холь является частью государственного природного биосферного заповедника «Убсунурская котловина», имеющего статус объекта всемирного природного наследия ЮНЕСКО.

Сведения по ихтиофауне оз. Торе-Холь крайне скудны и разрозненны. В наших уловах в оз. Торе-Холь (июль 2016 г.) отмечались алтайский осман, щука *Esox lucius* L., 1758 и пелядь *Coregonus peled* (Gmelin, 1789). В 1960-х годах сообщалось о наличии только одного вида, алтайского османа, в этом озере (Гундризер, 1967). Позднее, в 1972 г., в оз. Торе-Холь были успешно интродуцированы щука и пелядь (Кальная и др., 2018). В 2011 г. в озеро были запущены мальки форели (Измайлова, 2020).

Алтайский осман (15 экз.) выловлен в июле 2016 г. в северо-восточной части оз. Торе-Холь, недалеко от одноименной базы отдыха (рис. 1). Сбор, фиксация и камеральная обработка паразитов проводились по общепринятым методам (Быховская-Павловская, 1985). Видовая идентификация паразитов осуществлялась с использованием определителей, каталогов и оригинальных описаний (Соколов, 1952; Шульман, 1984; Гусев, 1985; Бауер, 1987; Пугачев, 2001, 2002, 2003, 2004; Williams, 1966; Niewiadomska, 2010).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В фауне паразитов алтайского османа *Oreoleuciscus* sp. из оз. Торе-Холь нами отмечено 16 видов из 8 таксономических групп: Kinetoplastea – *Trypanosoma* sp., *Cryptobia* sp.; Peritrichia – *Trichodina intermedia* Lom, 1960, *Trichodinella epizootica* (Raabe, 1950); Monogenea – *Dactylogyrus phoxini* Malewitskaja, 1949, *Gyrodactylus nordmanni* Ergens et Dulmaa, 1970; Cestoda – *Paradilepis scolecina* (Rudolphi, 1819); Trematoda – *Allocreadium transversale* (Rudolphi, 1802), *Diplostomum gasterostei* Williams, 1966, *Tylodelphys clavata* (Nordmann, 1832), *T. craniaria* Diesing, 1850; Nematoda – *Contracaecum osculatum* (Rudolphi, 1802), *Rhabdochona denudata* (Dujardin, 1845), *Pseudocapillaria tomentosa* (Dujardin, 1845); Acanthocephala – *Neoechinorhynchus rutili* (Müller, 1780); Hydrachnidia – *Porohalacarus hydrachnoides* (Lohmann, 1893) (табл. 1).

Метацеркарии *T. craniaria* локализуются в черепной полости алтайского османа. Этот вид впервые регистрируется не только в оз. Торе-Холь, но и в Северной Азии; ранее метацеркарии *T. craniaria* обнаруживали в черепной полости и цереброспинальной жидкости выюна *Misgurnus fossilis* (L., 1758) в Европе (Hughes, 1929; Niewiadomska, 2010).

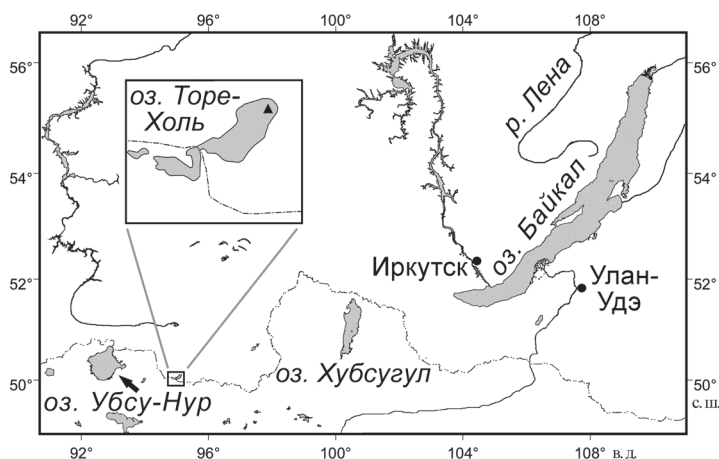


Рисунок 1. Расположение оз. Торе-Холь. Штрихпунктирной линией обозначена государственная граница между Россией (вверху) и Монголией (внизу). Черным треугольником показано место вылова алтайского османа в водоеме.

Figure 1. The location of the Tore-Khol lake. The dash-dotted line indicates the state border between Russia (above) and Mongolia (below). The black triangle shows the place where the Altai Osman was caught in the lake.

В первом паразитологическом исследовании у алтайского османа *O. humilis* (82 особи), выловленного в бассейне р. Тес-Хем, зарегистрировано 4 вида паразитов: *Dactylogyrus ersinensis* Spassky et Roytman, 1960 (Спасский, Ройтман, 1960), *Capillaria* sp. (*brevispicula*?), *Contracaecum* sp. (larvae) и *Rhabdochona humili* Roytman et Trofimenko, 1964 (Спасский и др., 1965). В дальнейшем, в 1960–1970-х годах, у алтайских османов в водоемах Убсунурской котловины и озерно-речной системе рек Ховд (Кобдо) и Завхан (Дзабхан, Дзапхын) с бассейном оз. Урэг-Нур (Россия и Западная Монголия) отмечено 14 видов паразитов, с учетом 4 из работы Спасского и др. (1965): *Myxobolus circulus* Achmerov, 1960 (syn. *Myxosoma circulus* (Achmerov, 1960)), *Myxobolus mongolicus* Pronin, 1973 (syn. *M. oreoleucisci* Gundrizer, 1976), *Dactylogyrus ersinensis*, *Gyrodactylus oreoleucisci* Ergens et Dulmaa, 1970, *Caryophyllaeides fennica* (Schneider, 1902), *Proteocephalus torulosus* (Batsch, 1786), *Allocreadium elongatum* (Achmerov, 1960), *Contracaecum* sp. (larvae), *Rhabdochona humili*, *Capillaria* sp. (*brevispicula*?), *Philometra oreoleucisci* Moravec et Ergens, 1970, *Neoechinorhynchus* sp., *Acanthocephalus lucii* (Müller, 1776) и *Piscicola geometra* (L., 1761) (Гундризер, 1976, 1980).

На основе собственных данных, сведений из статей Спасского и др. (1965) и Гундризера (1976, 1980) фауна паразитов алтайских османов в водных объектах Убсунурской котловины представлена 29 видами из 10 таксономических групп: Kinetoplastea – *Trypanosoma* sp., *Cryptobia* sp.; Myxozoa – *Myxobolus circulus*, *M. mongolicus*; Peritrichia – *Trichodina intermedia*, *Trichodinella epizootica*; Monogenea – *Dactylogyrus ersinensis*, *D. phoxini*, *Gyrodactylus oreoleucisci*, *G. nordmanni*; Cestoda – *Caryophyllaeides fennica*, *Paradilepis scolecina*; Trematoda – *Allocreadium elongatum*, *A. transversale*, *Diplostomum gasterostei*, *Tylodelphys clavata*, *T. craniaria*; Nematoda – *Capillaria* sp. (*brevispicula*?), *Pseudocapillaria tomentosa*, *Contracaecum osculatum*, *C. sp.*, *Philometra oreoleucisci*, *Rhabdochona denudata*, *R. humili*; Acanthocephala – *Neoechinorhynchus rutili*,

Таблица 1. Фауна паразитов алтайского османа *Oreoleuciscus* sp. в оз. Торе-Холь

Table 1. Parasite fauna of the Altai Osman *Oreoleuciscus* sp. in the Tore-Hol lake

№	Название вида	Экстенсивность инвазии, %	Индекс обилия, экз.
Кинетопластиды (Kinetoplastea)			
1	<i>Trypanosoma</i> sp. ¹	60.0	-
2	<i>Cryptobia</i> sp. ¹	53.3	-
Кругоресничные инфузории (Peritrichia)			
3	<i>Trichodina intermedia</i> Lom, 1960 ¹	60.0	-
4	<i>Trichodinella epizootica</i> (Raabe, 1950) ¹	46.7	-
Моногенеи (Monogenea)			
6	<i>Dactylogyrus phoxini</i> Malewitszkaja, 1949 ¹	46.7	1.27
5	<i>Gyrodactylus nordmanni</i> Ergens et Dulmaa, 1970 ¹	40.0	1.27
Цестоды (Cestoda)			
7	<i>Paradilepis scolecina</i> (Rudolphi, 1819) ¹	53.3	5.27
Трематоды (Trematoda)			
8	<i>Allocreadium transversale</i> (Rudolphi, 1802) ¹	93.3	12.13
9	<i>Diplostomum gasterostei</i> Williams, 1966 ¹	66.7	1.73
10	<i>Tylodelphys clavata</i> (Nordmann, 1832) ¹	6.7	0.07
11	<i>Tylodelphys craniaria</i> Diesing, 1850 ¹	100.0	61.80
Нематоды (Nematoda)			
12	<i>Contracaecum osculatum</i> (Rudolphi, 1802) ¹	86.7	12.00
13	<i>Rhabdochona denudata</i> (Dujardin, 1845) ¹	73.3	2.20
14	<i>Pseudocapillaria tomentosa</i> (Dujardin, 1845) ¹	20.0	1.40
Скребни (Acanthocephala)			
15	<i>Neoechinorhynchus rutili</i> (Müller, 1780) ¹	20.0	0.20
Водяные клещи (Hydrachnidia)			
16	<i>Porohalacarus hydrachnoides</i> (Lohmann, 1893) ¹	60.0	1.87

Примечание. ¹ – виды, впервые выявленные у алтайского *Oreoleuciscus* sp. в оз. Торе-Холь.

Прочерк – индекс обилия не подсчитан.

N. sp., *Acanthocephalus lucii*; Hirudinea – *Piscicola geometra*; Hydrachnidia – *Porohalacarus hydrachnoides*.

Необходимо отметить, что трематода *Allocreadium elongatum* является специфичной для монгольского краснопера *Chanodichthys mongolicus* (Basilewsky, 1855). Ареал этого вида ограничен бассейном Амура и, вероятно, реками северного Китая (Пугачев, 2003). Необходимы дальнейшие исследования для уточнения таксономического статуса трематод этого рода (*Allocreadium*) у алтайского османа.

В целом у алтайских османов из озер Центрально-Азиатского внутреннего бессточного бассейна, частью которого является Убсунурская котловина, с учетом собственных и литературных данных, зарегистрировано 82 вида из 14 таксономических групп: Kinetoplastea – *Trypanosoma carassii* (Mitrophanov, 1883), *Trypanosoma* sp., *Cryptobia* sp.; Coccidia – *Goussia minuta* (Thelohan, 1892) (syn. *Eimeria minuta* sensu Doflein, 1909), *Eimeria* sp.; Мухозоа – *Chloromyxum cristatum* Leger, 1906, *Myxidium pfeifferi* Auerbach, 1908, *Myxobolus circulus*, *M. pseudodispar* Gorbunova, 1936, *M. mongolicus*, *M. ellipsoides* Thelohan, 1892, *M. sp.*; Litostomatea – *Hemiophrys disciformis* Chen, 1956; Phyllopharyngea – *Chilodonella hexasticha* (Kiernik, 1909), *Chilodonella piscicola* (Zacharias, 1894); Hymenos-

tomatia – *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876; Peritrichia – *Apiosoma piscicolum* Blanchard, 1885, *A. amoebae* (Grenfell, 1887), *A. amurense* Banina et Yuchimenko, 1975, *A. conicum* (Timofeev, 1962), *A. minutum* (Chen, 1961), *A. phoxini* Lom, 1966, *Heteropolaria lwoffii* (Fauré-Fremiet, 1943) (syn. *Epistylis lwoffii* Fauré-Fremiet, 1943), *Trichodina acuta* Lom, 1961, *T. intermedia*, *T. nigra* Lom, 1960, *Paratrichodina corlissi* Lom et Haldar, 1977, *P. incisa* (Lom, 1959), *Trichodinella epizootica*, *Scyphidia* sp.; Monogenea – *Dactylogyrus ersinensis*, *D. mrazeki* Ergens et Dulmaa, 1968, *D. oreoleucisci* Ergens et Dulmaa, 1970, *D. phoxini*, *Gyrodactylus llewellyni* Ergens et Dulmaa, 1967, *G. magnificus* Malmberg, 1957, *G. mongolicus* Ergens et Dulmaa, 1970, *G. minimus* Malmberg, 1956, *G. nordmanni*, *G. oreoleucisci*, *G. pewzowi* Ergens, 1980; Cestoda – *Caryophyllaeides fennica*, *Diphyllobothrium dendriticum* (Nitzsch, 1824), *Proteocephalus torulosus* (Batsch, 1786), *Paradilepis scolecina*; Trematoda – *Allocreadium elongatum*, *A. isoporum* (Looss, 1894), *A. papilligerum* (Rees, 1968), *A. transversale*, *Ornithodiplostomum scardinii* (Schulman, 1952), *Posthodiplostomum brevicaudatum* (Nordmann, 1832), *Diplostomum gasterostei*, *D. huronense* (La Rue, 1927), *D. phoxini* (Faust, 1918), *D. rutili* Razmashkin, 1969, *D. helveticum* (Dubois, 1929), *D. mergi* Dubois, 1932, *D. paracaudum* (Iles, 1959), *D. spathaceum* (Rudolphi, 1819), *D. volvens* Nordmann, 1832, *D. pusillum* (Dubois, 1928), *Hysteromorpha triloba* (Rudolphi, 1819), *Tylodelphus clavata*, *T. craniaria*, *T. podicipina* Kozicka et Niewiadomska, 1960, *T. cerebrealis* (Chakrabarti, 1968), *Ichthyocotylurus erraticus* (Rudolphi, 1809), *I. pileatus* (Rudolphi, 1802); Nematoda – *Capillaria* sp. (*brevispicula*?), *Pseudocapillaria tomentosa*, *Eustrongylides mergorum* (Rudolphi, 1809), *Philometra oreoleucisci*, *Rhabdochona denudata*, *R. humili*, *Contracaecum microcephalum* (Rudolphi, 1809), *C. osculatum*, *C. sp.*; Acanthocephala – *Neoechinorhynchus rutili*, *N. sp.*, *Acanthocephalus lucii*; Hirudinea – *Piscicola geometra*; Hydrachnidia – *Porohalacarus hydrachnoides* (Спасский и др., 1965; Гундризер, 1976, 1980; Трофименко, Пэрэнлейжамц, 1978; Аникиева и др., 1987; Пэрэнлейжамц, 1993; Пугачев, 1999; Батуева, 2011).

ВЫВОДЫ

На основе проведенного анализа собственных и литературных данных выяснено, что в фауне паразитов алтайских османов рода *Oreoleuciscus* из озера Центрально-Азиатского внутреннего бессточного бассейна, к которому относится Убсунурская котловина, насчитывается 82 вида из 14 таксономических групп.

Фауна паразитов алтайских османов, по нашим и литературным сведениям, в водных объектах Убсунурской котловины представлена 29 видами из 10 таксономических групп.

У алтайского османа *Oreoleuciscus* sp. в оз. Топе-Холь нами выявлено 16 видов паразитов (*Trypanosoma* sp., *Cryptobia* sp., *Trichodina intermedia*, *Trichodinella epizootica*, *Dactylogyrus phoxini*, *Gyrodactylus nordmanni*, *Paradilepis scolecina*, *Allocreadium transversale*, *Diplostomum gasterostei*, *Tylodelphus clavata*, *Tylodelphus craniaria*, *Contracaecum osculatum*, *Rhabdochona denudata*, *Pseudocapillaria tomentosa*, *Neoechinorhynchus rutili*, *Porohalacarus hydrachnoides*), впервые зарегистрированных у данного хозяина в этом водоеме.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках темы гос. задания (регистрационный номер АААА-А17-117011810039-4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аникиева Л.В., Пугачев О.Н., Пэрэнлэйжамц Ж. 1987. Цестоды рода *Proteocephalus* от алтайского османа (*Oreoleuciscus*: Cyprinidae). В сб.: Труды Зоологического института АН СССР. Л., 161: 94–106.
- Батищева Н.М., Картавец Ю.Ф., Богуцкая Н.Г. 2011. Филогенетический анализ алтайских османов рода *Oreoleuciscus* (Pisces, Cyprinidae, Leuciscinae), основанный на исследовании нуклеотидных последовательностей гена цитохромоксидазы 1 (*Co-1*). Генетика 47 (10): 1335–1345.
- Батуева М.Д. 2011. Паразитофауна и структура сообществ паразитов карликового алтайского османа *Oreoleuciscus humilis* Warpachowski, 1889 озера Уст-Нур (бассейн реки Селенги) и реки Туин-Гол (Долина Озер) (Монголия). Паразитология 45 (5): 379–383.
- Бауер О.Н. (отв. ред.). 1987. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Т. 3. Паразитические многоклеточные (Вторая часть). Л., Наука, 583 с. (Определители по фауне СССР)
- Быховская-Павловская И.Е. 1985. Паразиты рыб. Руководство по изучению. Л., Наука, 121 с.
- Гундризер А.Н. 1967. К изучению рыб Тувы. В сб.: Ученые записки Томского гос. университета. Томск, Изд-во Томского гос. университета, 53 (Биология и почвоведение): 67–78.
- Гундризер А.Н. 1976. О паразитофауне рыб Западно-Монгольской ихтиологической провинции (в пределах Тувинской АССР). В кн.: Бауер О.Н. (отв. ред.). Болезни и паразиты рыб Ледовитоморской провинции (в пределах СССР). Свердловск, Средне-Уральское книжное изд-во, 69–79.
- Гундризер А.Н. 1980. К изучению паразитофауны рыб Тувы. В сб.: Новые данные о природе Сибири. Томск, Изд-во Томского гос. университета, 43–55.
- Гусев А.В. (отв. ред.). 1985. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Т. 2. Паразитические многоклеточные (Первая часть). Л., Наука, 425 с. (Определители по фауне СССР)
- Дгебуадзе Ю.Ю. 2001. Экологические закономерности изменчивости роста рыб. М., Наука, 276 с.
- Дгебуадзе Ю.Ю., Мина М.В., Мироновский А.Н. 2008. К оценке фенетических отношений алтайских османов (*Oreoleuciscus*, Cyprinidae) из трех озер Монголии по признакам черепа. Вопросы ихтиологии 48 (3): 315–323.
- Дгебуадзе Ю.Ю., Мироновский А.Н., Мендсайхан Б., Слынько Ю.В. 2017. Первый случай морфологической дифференциации алтайского османа Потанина *Oreoleuciscus potanini* (Cyprinidae, Actinopterygii) в реке. Доклады Академии наук 473 (2): 250–253.
- Измайлова А.В. 2020. Торе-Холь. Вода России (Федеральный информационный портал). Режим доступа: https://water-ru.ru/Водные_объекты/2191/Торе-Холь (4 августа 2020)
- Кальная О.И., Забелин В.И., Арчимаева Т.П., Аюнова О.Д. 2018. Экология и биоразнообразие приграничных территорий Тувы и Монголии. Известия Алтайского отделения Русского географического общества 1 (48): 33–48.
- Мироновский А.Н., Касьянов А.Н., Слынько Ю.В., Дгебуадзе Ю.Ю. 2014. Фенетические отношения и многомерные онтогенетические каналы экологических форм алтайского османа *Oreoleuciscus potanini* (Cyprinidae) озера Ногон (Котловина Больших озер, Монголия). Вопросы ихтиологии 54 (1): 25–31.
- Мироновский А.Н., Маврин А.С., Кожара А.В., Слынько Ю.В. 2019. Фактор солёности в микроэволюции рыб и распределение возрастных групп алтайского османа *Oreoleuciscus potanini* (Cyprinidae) в озерах Айраг и Хяргас (Монголия). Экология 3: 233–235.
- Мироновский А.Н., Слынько Ю.В., Касьянов А.Н., Горошкова Т.В. 2018. Сравнительный анализ изменчивости экологических форм алтайского османа *Oreoleuciscus potanini* (Cyprinidae) в озерах Айраг, Хяргас и Ногон (Западная Монголия). Экология 3: 214–219.
- Пугачев О.Н. 1999. О возможном природном очаге филометроза османа (Cyprinidae: *Oreoleuciscus humilis*) в Гобийском озере Бон-Цаган-Нур. В сб.: Проблемы природной очаговости: Материалы Совещания Паразитологического общества при РАН. СПб., 207–221.
- Пугачев О.Н. 2001. Каталог паразитов пресноводных рыб Северной Азии. Простейшие. СПб., Зоологический институт РАН, 242 с.
- Пугачев О.Н. 2002. Каталог паразитов пресноводных рыб Северной Азии. Книдарии, моногенеи, цестоды. Труды Зоологического института РАН 297: 1–248.
- Пугачев О.Н. 2003. Каталог паразитов пресноводных рыб Северной Азии. Трематоды. Труды Зоологического института РАН 298: 1–224.

- Пугачев О.Н. 2004. Каталог паразитов пресноводных рыб Северной Азии. Нематоды, скребни, пиявки, моллюски, ракообразные, клещи. Труды Зоологического института РАН 304: 1–250.
- Пэрэнлэйжамц Ж. 1993. Гельминты и другие группы паразитов рыб Монголии (фауна, эколого-фаунистическая характеристика, зоогеография). Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 33 с.
- Слынько Ю.В., Дгебуадзе Ю.Ю. 2009. Популяционно-генетический анализ алтайских османов (*Oreoleuciscus*, Cyprinidae) из водоемов Монголии. Вопросы ихтиологии 49 (5): 632–645.
- Соколов И.И. 1952. Водяные клещи. Ч. 2. Halacarinae. М., Л., Изд-во АН СССР, 202 с. (Фауна СССР, Паукообразные, т. 5, вып. 5)
- Спасский А.А., Ивашкин В.М., Бояговяленский Ю.К., Сонин М.Д. 1958. Работа 306-й Союзной Гельминтологической экспедиции 1956–1957 гг. в Тувинской автономной области. В кн.: Скрябин К.И. (ред.). Работа экспедиций Гельминтологической лаборатории Академии наук СССР (1945–57 гг.). М., 73–103.
- Спасский А.А., Ройтман В.А. 1960а. Фауна трематод, цестод и скребней рыб верховьев Енисея. Вопросы ихтиологии. Вып. 15. М., Изд-во АН СССР, 183–192.
- Спасский А.А., Ройтман В.А., 1960б. Гельминты класса Monogenoidea от рыб Тувинской автономной области. Труды Гельминтологической лаборатории Академии наук СССР, т. 10. М., 198–211.
- Спасский А.А., Ройтман В.А., Трофименко В.Я. 1965. Гельминты рыб Тувинской АССР. Материалы к научной конференции Всесоюзного общества гельминтологов. М., 231–236.
- Трофименко В.Я., Пэрэнлэйжамц Ж. 1978. Monogenoidea рыб рода *Oreoleuciscus* (Cyprinidae) из некоторых озер Западной Монголии. В сб.: География и динамика растительного и животного мира МНР. М., Наука, 183–188.
- Шульман С.С. (отв. ред.). 1984. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Т. 1. Паразитические простейшие. Л., Наука, 431 с. (Определители по фауне СССР)
- Hughes R.C. 1929. Studies on the trematode family Strigeidae (Holostomidae), № XIV: Two new species of *Diplostomula*. Occasional Papers of the Museum of Zoology, University of Michigan, 202: 1–29.
- Niewiadomska K. 2010. Przywry (Trematoda). Część ogólna; część systematyczna – Aspidogastrea, Digenea: Strigeida. Łódź, Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego, 388 pp.
- Williams M.O. 1966. Studies on the morphology and life cycle of *Diplostomum* (*Diplostomum*) *gasterostei* (Strigeida: Trematoda). Parasitology 56: 693–706.

PARASITES OF THE ALTAI OSMAN *OREOLEUCISCUS* SP. (CYPRINIFORMES, CYPRINIDAE) IN TORE-KHOL LAKE (UBSUNUR HOLLOW, TUVA)

Z. N. Dugarov, T. G. Burdukovskaya, T. R. Khamnueva,
D. R. Baldanova, A. N. Kuksin

Key words: Altai Osmans, *Oreoleuciscus*, parasites, Tore-Khol lake, Ubsunur Hollow, Tuva

SUMMARY

Altai Osmans, united in the genus *Oreoleuciscus*, are endemic fish of Central Asia. The high plasticity of morphological characters, the ability to sympatric intraspecific diversification, and the evolutionary youth of the group make the situation with the taxonomic structure of the genus *Oreoleuciscus* extremely difficult, and at the same time facilitate intensive and versatile studies of fish of this genus. The expansion and deepening of knowledge on the taxonomy and ecology of Altai Osmans give a new impetus to parasitological studies of these fish. For the first time, a study of the fauna of parasites of the Altai Osman *Oreoleuciscus* sp. in Tore-Khol lake' (Ubsunur Hollow, Tuva) was conducted. 16 species of parasites from 8 taxonomic groups were identified: Kinetoplastea – *Trypanosoma* sp., *Cryptobia* sp.; Peritrichia – *Trichodina intermedia*, *Trichodinella epizootica*; Monogenea – *Dactylogyrus phoxini*, *Gyrodactylus nordmanni*; Cestoda – *Paradilepis scolecina*; Trematoda – *Allocreadium transversale*, *Diplostomum gasterostei*, *Tylodelphys clavata*, *T. craniaria*; Nematoda – *Contracaecum osculatum*, *Rhabdochona denudata*, *Pseudocapillaria tomentosa*; Acanthocephala – *Neoechinorhynchus rutili*; Hydrachnidia – *Porohalacarus hydrachnoides*. All 16 species of parasites are first registered with the host in this lake.

УДК 591.9:595.775 (479)

БЛОХИ (SIPHONAPTERA) МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ПТИЦ НА ВОСТОЧНОМ КАВКАЗЕ

© 2020 Б. К. Котти^{ab*}, Ю. С. Артюшина^{b**}

^a ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»,
ул. Пушкина, 1, Ставрополь 355009 Россия

^b ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора,
ул. Советская, 13, Ставрополь 355035 Россия

*e-mail: boris_kotti@mail.ru

**e-mail: julia_art@bk.ru

Поступила в редакцию 20.08.2020 г.

После доработки 15.09.2020 г.

Принята к публикации 17.09.2020 г.

Восточный Кавказ составляет третью часть площади горной системы Большого Кавказа. В этом своеобразном регионе отмечена богатая фауна блох, представленная 94 видами 38 родов. Это составляет свыше 62 % от общего числа видов и более 90 % общего числа родов, обнаруженных на Кавказе.

На Восточном Кавказе на млекопитающих паразитирует 78, а на птицах — 16 видов блох. К лесному высотному поясу приурочены блохи 11 видов, другие – к остепенным и опустыненным предгорьям или высокогорьям. Распределение видов блох по высотным поясам обусловлено распространением специфичных хозяев и особенностями абиотических условий.

Ключевые слова: блохи, млекопитающие, птицы, специфичность, распространение, фауна, Восточный Кавказ

DOI: 10.31857/S1234567806050065

Ранее нами были проанализированы особенности видового разнообразия и паразито-хозяйинных связей блох Западного и Центрального Кавказа (Котти, 2018; Котти и др., 2019). В настоящем сообщении обобщены результаты многолетних исследований фауны блох Восточной части Большого Кавказа.

Начало изучению фауны блох восточной части Большого Кавказа было положено в первой половине прошлого столетия (Wagner, Argyporulo, 1934; Аргиропуло, 1935, 1937). На территории южного склона Восточного Кавказа было отмечено 14 видов, из которых 1 вид и 2 подвида были новыми для науки. Они были собраны в окрестностях с. Илису Кахского района Азербайджана.

На северном склоне Восточного Кавказа первоначально было обнаружено 9 видов блох (Мирзоева, 1956). Однако позднее в предгорьях, внутренних горах и высокогорьях Дагестана был выполнен значительный объем исследований (всего было собрано 159 тыс. экз. блох), что позволило установить здесь обитание 62 видов (Шатас, 1957).

Дополнительная информация о фауне блох Восточного Кавказа была также опубликована и в первой половине 1960-х годов (Гусев и др., 1961; Лабунец, 1961; Кадацкая и др., 1962; Кадацкая, 1965).

Природные очаги чумы на территории Восточного Кавказа были впервые локализованы в 1953 г. к югу от Баку в горной местности Кобыстан, или Гобустан, расположенной между юго-восточным склоном Большого Кавказского хребта и берегом Каспия. Другие очаги чумы были обнаружены в 1970 г. на территории Терско-Сунженского междуречья, а в 1977 г. — в высокогорьях Восточного Кавказа. Это обусловило следующий этап изучения фауны блох региона, паразитирующих в основном на грызунах. Исследованиями были охвачены млекопитающие и других отрядов, а также птицы (Исаева, 1971; Губарева и др., 1978; Талыбов, 1981; Кадацкая, Сафаров, 1982; Кадацкая и др., 1985; Коржов и др., 1985; Агаева, 1987; Казакова и др., 1987; Казакова, Лабунец, 1988, 1990; Лабунец и др., 1988; Дятлов и др., 2000).

ПРИРОДНЫЕ УСЛОВИЯ

Горная система Восточного Кавказа простирается в субширотном направлении почти на 500 км (рис. 1), располагаясь на крайнем юге умеренного климатического пояса. Здесь находятся Терско-Сунженский низкогорный, Восточно-Кавказский высокогорный природные очаги чумы, а также Кобыстанский автономный участок Закавказского равнинно-предгорного очага (Кутырев, Попова, 2016). Исследования носителей и переносчиков возбудителей чумы на этих и сопредельных территориях Восточного Кавказа имеют значительное медицинское значение.

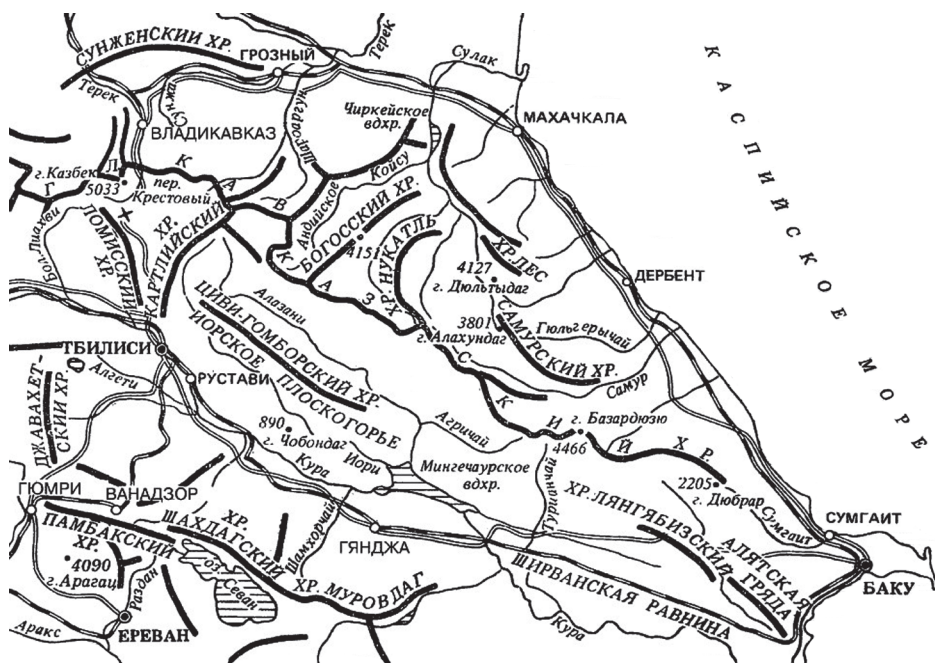


Рисунок 1. Орографическая схема Восточного Кавказа.

Figure 1. Orographic scheme of the Eastern Caucasus.

В предгорьях (высота до 1000 м над ур. м.) северного макросклона распространена лесостепная растительность. Для среднегорий (высота от 1000 до 2000 м) характерны широколиственные леса, не образующие сплошного пояса, а для высокогорий (свыше 2000 м) – субальпийские и альпийские луга. В лесостепном поясе северного склона Восточного Кавказа фоновыми видами из млекопитающих являются общественная полевка и домовая мышь. В поясе широколиственных лесов обычны мыши рода *Sylvaemus*, обыкновенная полевка, закавказский хомяк и серый хомячок, а в субальпийском – обыкновенная полевка, серый хомячок и предкавказский хомяк.

На южном макросклоне Восточного Кавказа наиболее значительную часть территории предгорий составляют полупустыни. Редколесье с аридной растительностью произрастает здесь до высоты 500–600 м над ур. м., широколиственные леса – до 2300 м, выше которого расположен пояс субальпийских и альпийских лугов. Фоновыми видами в полупустынях являются краснохвостая песчанка, малоазийский и малый тушканчики, общественная полевка и серый хомячок. Многочисленны и широко распространены в аридном редколесье также общественная полевка и домовая мышь. В широколиственных лесах ядро териофауны составляют мыши рода *Sylvaemus*, лесная соня, полчок, кустарниковая полевка. На субальпийских лугах наиболее многочисленна обыкновенная полевка. Широко распространены дагестанская и водяная полевки, а также мыши рода *Sylvaemus*.

Исследования фауны Восточного Кавказа представляют большой интерес. Различные условия обитания млекопитающих и птиц на территории Восточного Кавказа обуславливают и значительное разнообразие видового состава блох. Обширные безлесные пространства населены разнообразными млекопитающими и птицами, роющими норы и устраивающими в них гнезда или использующими норы других теплокровных хозяев. Некоторые из животных – обитателей лугов и степей – строят гнезда на поверхности земли. Лесные биотопы дают возможность обитания в них животных, гнезда которых помещаются в дуплах или среди ветвей. Особые условия обитания для зверей, птиц и их эктопаразитов создают многочисленные скальные участки и осыпи.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Основу настоящей работы составляют материалы, собранные авторами на Восточном Кавказе в период с 1978 по 1990 г. в 20 пунктах, расположенных на высоте от 300 до 2700 м над ур. м. В общей сложности была определена видовая принадлежность около 100 тысяч экз. блох, собранных с 23 тысяч зверьков, а также обнаруженных в результате обследования 410 гнезд млекопитающих и птиц.

С 1978 по 1981 г. совместно со специалистами Дагестанской противочумной станции были изучены популяции обыкновенной и водяной полевок, серого хомячка и других мелких млекопитающих. Работы проводились в субальпийском и альпийском высотных поясах на высоте 2300–2700 м над ур. м. Места сбора находились севернее Самурского хребта в окрестностях горы Кокмадаг на территории Кулинского и Агульского районов Дагестана. Кроме того, отдельные сборы блох и их хозяев были выполнены в среднегорьях – в долине р. Самур (Ахтынский и Рутульский районы) и в предгорьях – на северном склоне Гимринского хребта (Буйнакский р-н).

В 1984–1990 гг. осуществлены экспедиционные выезды в Кобыстан, Алазань-Агричайскую долину, крайнюю северо-восточную часть Большого Кавказа (Кубинский и Кусарский районы Азербайджана).

Ряд сведений о фауне блох Восточного Кавказа был получен при работе с коллекционными фондами и архивными материалами Ставропольского научно-исследовательского противо-

чумного института, Зоологического института РАН (ЗИН РАН), Азербайджанской и Дагестанской противочумных станций.

По степени специфичности паразитов в выборе выделяют блох, паразитирующих на хозяевах одного вида (моноксенные, или ультраспецифичные паразиты) и нескольких видах из одного рода (олигоксенные паразиты). Кроме того, среди видов блох представлены плеюксенные паразиты, имеющие основных хозяев из нескольких родов одного семейства, а также поликсенные паразиты, хозяева которых принадлежат к разным семействам, отрядам или даже классам (Балашов, 2000).

Ниже названия птиц и млекопитающих приведены по специальным руководствам (Степанян, 2003, Лисовский и др., 2019). Сведения о населении птиц и млекопитающих Восточного Кавказа изложены на основании материалов ряда публикаций (Исаков и др., 1966; Темботов, 1972; Темботов, Казаков, 1982; Соколов, Темботов, 1989; Белик, 2013; Джамирозев и др., 2017).

СПЕЦИФИЧНОСТЬ СВЯЗЕЙ БЛОХ С ХОЗЯЕВАМИ

Восточный Кавказ составляет третью часть площади всего Кавказа. Однако отряд блох в этом регионе представлен 94 видами, что составляет свыше 62 % от общего числа видов, известных на Кавказе в целом.

Блохи млекопитающих

На Восточном Кавказе обитает более 90 видов млекопитающих (Шидловский, 1976; Эйгелис, 1980; Темботов, Казаков, 1982; Соколов, Темботов, 1989), из которых меньше половины – 44 вида грызунов, насекомых, рукокрылых и хищных служат хозяевами блох.

Блохи *Hystrichopsylla talpae* (Curtis, 1826) и *H. satunini* Wagner, 1916 в субальпийском и альпийском высотных поясах паразитируют на полевках подсем. Arvicolinae, а в лесном – также и на кротах (Talpidae).

Насекомоядные, распространенные на Восточном Кавказе, служат основными хозяевами для 10 видов блох. В среднегорьях и высокогорьях на малом (*Talpa levantis* Thomas) и кавказском (*T. caucasica* Satunin) кротах паразитирует блоха *Palaeopsylla alpestris* Argyropulo, 1946, а на южном (*Erinaceus romanicus* Barrett-Hamilton) и ушастом [*Hemiechinus auritus* (Gmelin)] ежах – блоха *Archaeopsylla erinacei* (Bouché, 1835).

Блохи *Doratopsylla dampfi* Argyropulo, 1935 и *Palaeopsylla gromovi* Argyropulo, 1934 также распространены в среднегорьях и высокогорьях, где обитают и их хозяева – 2 вида бурозубок рода *Sorex* и кутора Шелковникова (*Neomys teres* Miller). Блохи *Lep-topsylla algira* J. et R., 1911 и *L. sexdentata* (Wagner, 1930) паразитируют на белозубках рода *Crocidura*, распространенных на значительной части территории Восточного Кавказа.

Сведения о паразито-хозяинных связях блох сем. Ischnopsyllidae, являющихся специфическими эктопаразитами рукокрылых, на Восточном Кавказе остаются в значительной степени неполными. Блоха *Rhinolophopsylla unipectinata* (Taschenberg, 1880) обнаружена на большом подковоносе *Rhinolophus mehelyi* Matschie. Вероятно, этот вид блох паразитирует в регионе и на остальных видах подковоносов. Ночницы рода *Myotis* являются хозяевами блох *Ischnopsyllus intermedius* (Roths., 1898) и *I. dolosus* Dampf, 1912. Паразитами бурого ушана (*Plecotus auritus* L.) является блоха *Nycteridopsylla pentactena* (Kolenati, 1856), обнаруженная также на нетопыре-карлике [*Pipistrellus pipistrellus* (Schreber)]. На зверьках последнего вида найдены еще 2 других представителя рода *Nycteridopsylla* – *N. eusarca* Dampf, 1908 и *N. pentactena*.

Нетопырь Натузиуса [*Pipistrellus nathusii* (Keyserling et Blasius)] – основной прокормитель блохи *Ischnopsyllus variabilis* (Wagner, 1898), а различные виды вечерниц рода *Nyctalus* – основные хозяева блохи *I. elongatus* (Curtis, 1832). На позднем кожане [*Eptesicus serotinus* (Schreber)] паразитирует блоха *I. intermedius*, а на двухцветном кожанке (*Vespertilio murinus* L.) – *I. obscurus* (Wagner, 1898). Можно предположить, что перечисленные выше 10 видов сем. Ischnopsyllidae на Восточном Кавказе распространены, как и их хозяева, в предгорьях и среднегорьях.

На Восточном Кавказе девять видов отряда хищных известны как основные хозяева для блох девяти видов. *Pulex irritans* – блоха, поражающая зверей из семейств псовых (Canidae), куньих (Mustelidae) и кошачьих (Felidae). Паразитами волка (*Canis lupus* L.), обыкновенной лисицы [*Vulpes vulpes* (L.)] и барсука [*Meles meles* (L.)] являются три вида блох: *Chaetopsylla globiceps* (Tasch., 1880) и *C. trichosa* Kohaut, 1903, а также *Echidnophaga popovi* Ioff et Argyropulo, 1934. Специфическим паразитом барсука является блоха *Paraceras melis*. На лесной [*Martes martes* (L.)] и каменной [*M. foina* (Erxleben)] куницах паразитирует *Chaetopsylla rothschildi*. *C. hyaenae* отмечается на буром медведе (*Ursus arctos* L.).

Блоха хищных *Ctenocephalides felis* (Bouché, 1835) на Восточном Кавказе отмечается, главным образом, на домашней кошке (*Felis catus* L.), а другой вид этого рода – *C. canis* (Curtis, 1826) – на домашней собаке (*Canis familiaris* L.).

Грызуны, самый богатый видами отряд млекопитающих, на Восточном Кавказе служат основными хозяевами для 56 видов блох, что составляет более половины всех видов блох местной фауны. Многие из этих блох обитают на широком круге хозяев, включающем представителей разных семейств, но относящихся к одной экологической группе грызунов. Такие хомяковые, как общественная полевка [*Microtus socialis* (Pallas)], и такие мышинные, как краснохвостая песчанка (*Meriones erythrourus* Gray), населяют ксерофитные биотопы. Общим паразитом общественной полевки и краснохвостой песчанки является блоха *Rhadinopsylla ucrainica* Wagner et Argyropulo, 1934. Для таких степных хомяковых, как полевки и собственно хомяки, а также для малого суслика (*Spermophilus pygmaeus* Menetries) из семейства беличьих общими является *Ctenophthalmus orientalis* (Wagner, 1898). Блоха *Ceratophyllus sciurorum* (Schränk, 1893) паразитирует на персидской (*Sciurus anomalus* Gmelin) белке, а также на лесной соне [*Dryomys nitedula* (Pallas)] и полчке [*Glis glis* (L.)], тоже ведущих древесный образ жизни.

Представители семейства беличьих служат основными хозяевами для девяти видов блох. В частности, на малом суслике в северных предгорьях паразитируют такие виды блох как *Oropsylla idahoensis* (Baker, 1904), *Citellophilus tesquorum* (Wagner, 1898), *Frontopsylla semura* Wagner et Ioff, 1926 *Neopsylla setosa* (Wagner, 1898), и *Ctenophthalmus orientalis* (Wagner, 1898). В числе редко встречающихся видов блох – паразит лесной сони и полчка – блоха *Myoxopsylla jordani* Ioff et Argyropulo, 1934.

Среди пятипалых тушканчиков (Allactagidae) следует отметить малого [*Allactaga elater* (Lichtenstein)] и малоазийского (*A. euphratica* Thomas) тушканчиков, служащих основными хозяевами для *Ophthalmopsylla volgensis* (Wagner et Ioff, 1926), *Mesopsylla apscheronica* Wagner et Argyropulo, 1934 и *Frontopsylla macrophthalma* (J. et R., 1915).

Различные виды хомяковых (Cricetidae) отмечены в качестве хозяев для блох более 40 видов. Некоторые представители подсемейств Cricetinae и Arvicolinae являются

хозяевами одних и тех же видов блох. Так, например, в высокогорье Восточного Кавказа в смешанных поселениях обыкновенной [*Microtus arvalis* (Pallas)] и водяной (*Arvicola terrestris* L.) полевков, а также предкавказского хомяка [*Mesocricetus raddei* (Nehring)] и серого хомячка [*Cricetulus migratorius* (Pallas)] обитают такие блохи как *Callopsylla caspia* (Ioff et Argyropulo, 1934), *Megabothris turbidus* (Rothschild, 1909), *Frontopsylla caucasica* Ioff et Argyropulo, 1934., *Ctenophthalmus golovi* Ioff et Tiflov, 1930 и *C. intermedius* Argyropulo, 1935. Данные паразито-хозяйные сообщества служат немаловажным фактором передачи возбудителя чумы между различными видами грызунов и блох на территории Восточно-Кавказского высокогорного природного очага чумы.

Примеры ультраспецифичных видов блох можно указать среди паразитов хомячьих (подсем. Cricetinae). Только на сером хомячке паразитирует блоха *Amphipsylla schelkovnikovii* Wagner, 1909. У предкавказского хомяка *Mesocricetus raddei* (Nehring, 1894) и закавказского хомяка – *Mesocricetus brandti* (Nehring, 1898) общие виды блох – *Ctenophthalmus rettigi* Rothschild, 1908 и *C. acuminatus* Ioff et Argyropulo, 1934.

Полевки различных видов служат общими хозяевами отдельных видов блох. Например, основным хозяином блохи *Nosopsyllus consimilis* (Wagner, 1898) являются обыкновенная, кустарниковая и общественная полевки, блохи *Ctenophthalmus schuriscus* Ioff, 1940 – обыкновенная и кустарниковая полевки, а *C. shovi* Rostigayev, 1948 – эти же виды и гудаурская полевка. В ряде мест Восточного Кавказа характерным паразитом водяной полевки является *Megabothris walkeri* (Roths., 1902).

На территории Восточного Кавказа обитают два вида подземных полевков (подрод *Terricola* Fatio) рода *Microtus*: кустарниковая (*Microtus majori* Thomas) и дагестанская (*M. daghestanicus* Shidlovsky). Данные виды не различимы по признакам строения, что затрудняет и характеристику особенностей их паразитофауны. В целом на территории Восточного Кавказа подземные полевки служат хозяевами для следующих 12 видов блох: *Megabothris turbidus* и *Nosopsyllus consimilis*; *Amphipsylla rossica* Wagner, 1912 и *Frontopsylla caucasica*, *Ctenophthalmus schuriscus*, *C. shovi*, *C. wagneri*, *C. dagestanicus* Rostigayev, 1967, *C. golovi*, *Rhadinopsylla caucasica*, *Stenoponia ivanovi* и *Hystrihopsylla satunini*. Однако из перечисленных видов только *Ctenophthalmus dagestanicus* является специфичным паразитом полевков этого подрода.

Обыкновенная полевка [*Microtus arvalis* (Pallas)] – широко распространенный степной и луговой грызун. На Восточном Кавказе этот вид – основной хозяин для блох 18 видов, среди которых можно указать монокошенного паразита *Amalaraeus dissimilis* (Jordan, 1938). Повсеместно, кроме высокогорий, на обыкновенной полевке паразитирует только один вид блох – *Nosopsyllus consimilis*.

Гудаурская (*Chionomys gud* Satunin) полевка на Восточном Кавказе является основным хозяином для блох *Callopsylla saxatilis* (Ioff et Argyropulo, 1934), *C. kazbegiensis* Goncharov, 1980, *Amphipsylla kuznetzovi* Wagner, 1912, *Paradoxopsyllus hesperius* Ioff, 1946, *Ctenophthalmus chionomydis* Ioff et Rostigayev, 1950 и *Paraneopsylla dampfi* Ioff, 1946.

В фауне Восточного Кавказа представлено шесть видов мышиных (Muridae). Из девяти видов блох, отмеченных на зверьках этого семейства, четыре приурочены к грызунам подсем. Murinae. Для мышей родов *Sylvaemus*, *Apodemus* и *Mus* это блохи *Leptopsylla taschenbergi* (Wagner, 1898), *Nosopsyllus mokrzecky* (Wagner, 1916) и *L. segnis* (Schönherr, 1811). Фауна блох синантропного грызуна, серой крысы [*Rattus norvegicus*

(Berkenhout)] на Восточном Кавказе представлена двумя видами: *Nosopsyllus fasciatus* (Bosc, 1800) и *Xenopsylla cheopis* (Roths., 1903).

Из подсемейства песчанковых (Gerbillinae) на Восточном Кавказе обитает только краснхвостая песчанка, которая населяет его юго-восточные предгорья. Здесь отмечены блохи *Xenopsylla conformis*, *Nosopsyllus laeviceps* Wagner, 1909, *Stenoponia tripectinata* (Tiraboschi, 1902), *Rhadinopsylla ucrainica* Wagner et Argyropulo, 1934 и *Coptopsylla caucasica* Isayeva-Gurvich, 1950.

Таким образом, из 95 видов блох млекопитающих фауны Большого Кавказа около половины составляют моноксенные паразиты. Значительная часть (31 %) видов блох специфичны для видов из одного или нескольких семейства хозяев. Значительно меньше (17 %) видов блох, которые являются олигоксенными паразитами.

Блохи птиц

На Восточном Кавказе и прилежащих к нему территориях гнездится свыше 200 видов птиц (Портенко, 1958; Белик, 2013; Джамирзоев и др., 2017). 16 видов из четырех родов блох паразитирует на различных видах птиц из отрядов голубеобразные (Columbiformes) и воробьинообразные (Passeriformes).

Воробьинообразные составляют подавляющее большинство видов авифауны Восточного Кавказа. На них паразитируют блохи 11 видов, из которых пять являются обитателями хорошо защищенных многолетних гнезд ласточек (Hirundinidae). При этом только блоха *Ceratophyllus styx* Roths., 1900 является моноксенным паразитом береговушки [*Riparia riparia* (L.)]. Такие виды блох, как *C. farreni* Roths., 1905, *C. rusticus* Wagner, 1903, *C. caliotus* Jordan, 1936, *C. hirundinis* (Curtis, 1826) паразитируют на воронке (*Delichon urbica* L.).

Среди паразитов других представителей воробьинообразных следует отметить блоху *Frontopsylla frontalis alata* Fedina, 1946, обитающей в норах каменки-плясуньи.

Гнезда хозяев блохи *Ceratophyllus gallinae* (Schränk, 1803) (например, таких как большая синица (*Parus major* L.)) расположены в дуплах. Блоха *C. fringillae* (Walker, 1856) обитает в гнездах птиц из травы и веток, расположенных в постройках человека или над поверхностью земли. Среди их хозяев следует отметить полевого [*Passer montanus* (L.)] и домового [*P. domesticus* (L.)] воробьев, а также скворца (*Sturnus vulgaris* L.). В гнезде сизого голубя (*Columba livia* Gmelin) из голубеобразных под крышей жилого дома отмечена блоха *Callopsylla gemina* (Ioff, 1946).

Такие виды как *Ceratophyllus garei* Roths., 1902, *C. frigoris* Darskaya, 1950, *C. vagabundus* (Bohemann, 1866) и *C. borealis* Roths., 1907 поражают птиц, устраивающих гнезда на земле, в трещинах скал и среди камней. Среди таковых следует отметить горихвостку-чернушку [*Phoenicurus ochruros* (S.G. Gmelin)], горную трясогузку [*Motacilla cinerea* Tunstall] и пестрого каменного дрозда [*Monticola saxatilis* (L.)].

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВИДОВ БЛОХ НА ТЕРРИТОРИИ ВОСТОЧНОГО КАВКАЗА

Из 41 рода блох, известных на территории Кавказа, в его восточной части отсутствуют роды *Caenopsylla*, *Phaenopsylla*, *Araeopsylla* и *Wagnerina*, виды которых распространены на юге Закавказья. Однако по общему числу видов Восточный Кавказ превосходит фауны Центрального и Западного Кавказа. Всего для Кавказа указано

девять видов-эндемиков, один из которых – *Ctenophthalmus intermedius*, распространен только на Восточном Кавказе.

Наиболее широко, от предгорий до альпийского высотного пояса, распространены паразиты хищных млекопитающих – блохи *Pulex irritans*, *Chaetopsylla trichosa*, *C. globiceps* и *Paraceras melis*. В нескольких высотных поясах представлены такие паразиты мелких млекопитающих как блохи *Megabothris turbidus*, *Amphipsylla rossica*, *A. schelkovnikovi*, *Leptopsylla taschenbergi*, *Ctenophthalmus proximus* и *C. intermedius*.

В лесостепном поясе северного макросклона Восточного Кавказа своеобразна фауна блох малого суслика. Она представлена такими видами как *Oropsylla idahoensis*, *Citellophilus tesquorum*, *F. semura*, *Neopsylla setosa*, и *Ctenophthalmus orientalis*. В полупустынной зоне южного макросклона выделяется фауна краснохвостой песчанки. Ее составляют такие виды как *Xenopsylla conformis*, *Coptopsylla caucasica*, *Nosopsyllus consimilis*, *N. laeviceps*, *Ctenophthalmus secundus*, *Rhadinopsylla ucrainica* и *Stenoponia tripectinata*.

Значительная часть видов встречаются на обоих макросклонах: *Echidnophaga popovi*, *E. gallinacea*, *Archaeopsylla erinacei*, *Xenopsylla cheopis*, *Nosopsyllus fasciatus*, *Megabothris walkeri*, *Ophthalmopsylla volgensis*, *Frontopsylla macrophthalma*, *Mesopsylla apscheronica*, *Ctenophthalmus acuminatus*, *C. secundus*, *C. wagneri*, *R. ucrainica*, *N. setosa* и *Stenoponia tripectinata*.

Среди обитателей лесного пояса следует отметить блох хищных, летучих мышей, ряда видов грызунов и птиц. Это, в частности, *Chaetopsylla rothschildi*, *Myoxopsylla jordani*, *Ceratophyllus sciurorum*, *C. gallinae*, *C. fringillae*, *C. pullatus*, *C. tribulis*, *Dasy-psyllus gallinulae*, *Paradoxopsyllus gussevi*, *Peromyscopsylla bidentata*, *Leptopsylla algira*, *L. nana* и *Ctenophthalmus rettigi*.

Преимущественно к субальпийскому поясу и альпийским лугам приурочены такие паразиты птиц и млекопитающих как *Chaetopsylla hyaenae*, *Callopsylla caspia*, *C. kazbegiensis*, *C. gemina*, *Ceratophyllus caliotus*, *C. rusticus*, *Amalaraeus dissimilis*, *Paradoxopsyllus hesperius*, *Frontopsylla caucasica*, *Amphipsylla kuznetzovi*, *Leptopsylla sexdentata*, *Ctenophthalmus chionomydis*, *C. golovi*, *C. schuriscus*, *C. shovi*, *C. dagestanicus*, *Palaeopsylla gromovi*, *P. alpestris*, *Doratopsyll dampfi*, *Rhadinopsylla caucasica*, *Paraneopsylla dampfi*, *Neopsylla pleskei*, *Stenopoinia ivanovi*, *Hystrihopsylla talpae* и *H. satunini*.

БЛОХИ В ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ ЧУМЫ НА ТЕРРИТОРИИ ВОСТОЧНОГО КАВКАЗА

Основным носителем возбудителя чумы на территории Терско-Сунженского низкоротного природного очага является малый суслик. Эпизоотии среди сусликов происходят в весенне-летний период, то есть во время наибольшей гонотрофической активности ряда видов блох. Основным переносчиком в этом очаге служит блоха *Citellophilus tesquorum*. Максимум численности этого вида блох приходится на период массового расселения молодых зверьков. Это характерно для многих других сусликовых природных очагов (Медведев и др., 2019). Наиболее высокая численность другого вида переносчика – блохи *Neopsylla setosa*, в этом очаге отмечается ранней весной во время пробуждения сусликов от спячки. Большинство самок обоих видов откладывают яйца весь период активной жизни хозяина. Весной интенсивно питаются

и размножаются имаго других переносчиков возбудителя чумы – блох *Frontopsylla semura* и *Oropsylla idahoensis*.

Закавказский равнинно-предгорный очаг занимает территорию Куринской низменности и прилежащих юго-западных предгорий Большого Кавказа. Границы очага совпадают с границами ареала краснотелой песчанки, основного носителя чумы в очаге. Этот грызун – главный хозяин блох *Xenopsylla conformis*, *Nosopsyllus laeviceps*, *N. iranensis*, *Stenoponia tripectinata*, *Coptopsylla caucasica*, *Rhadinopsylla cedestis* и *Rh. ucrainica*. Основным переносчиком в очаге – *Xenopsylla conformis* (Котти, Жильцова, 2019). На долю имаго этого вида приходится наибольшее число штаммов чумы, выделенных во время эпизоотий в Кобыстане в теплое время года. В холодный период в трансмиссии чумы первостепенное значение имеет *Nosopsyllus laeviceps*, активно паразитирующий в это время. Остальные, перечисленные выше, виды тоже принимают участие в передаче возбудителя. Одно из важных мест при этом занимают блохи рода *Rhadinopsylla*. Во многих других песчаночных очагах эти паразиты играют заметную роль в трансмиссии чумы (Медведев и др., 2020).

На территории Восточно-Кавказского высокогорного очага среди паразитов обыкновенной полевки указываются такие виды блох как *Callopsylla caspia*, *Megabothris turbidus*, *Amalaraeus dissimilis*, *Nosopsyllus consimilis*, *Frontopsylla caucasica*, *Ctenophthalmus golovi*, *C. intermedius*, *C. schuriscus*, *Rhadinopsylla caucasica*, *Hystrichopsylla talpae*, *H. satunini* и *Stenoponia ivanovi*. В этом очаге чумы от каждого из доминирующих видов блох основного носителя выделено число штаммов, соответствующее количеству исследованных экземпляров блох (*C. intermedius* – 24.2 %, *F. caucasica* – 17.5 %, *Callopsylla caspia* – 16.6 %). Эпизоотии наиболее интенсивно протекают в августе, когда наблюдается наибольшая гонотрофическая активность этих видов (Казаков, Казакова, 2002).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди видов блох фауны Восточного Кавказа преобладают паразиты грызунов, в несколько раз по числу видов меньше блох – паразитов хищных, рукокрылых и насекомых.

Более половины видов блох широко распространены на территории Восточного Кавказа. Среди хозяев видов блох с узкими региональными ареалами представлены как виды также с узкими ареалами, так и с широкими. Распределение видов блох по высотным поясам на Восточном Кавказе имеет свои особенности. Нигде более на Большом Кавказе не встретить такого значительного числа видов блох, характерных для полупустынной и степной природных зон. Можно указать примеры, когда одни и те же виды блох сменяют хозяев в зависимости от высотного пояса; в других случаях, напротив, изменяется видовой состав блох. В целом широкий спектр условий, наличие локальных преград, свойственных горным ландшафтам, способствует формированию на Восточном Кавказе разнообразной фауны блох.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена на базе коллекций Зоологического института РАН (ЗИН РАН) (УФК ЗИН рег. № 2-2.20) и Ставропольского ФКУЗ «Ставропольский противочумный

институт» Роспотребнадзора, при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 19-04-00759).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аргиропуло А.И. 1935. Блохи (Aphaniptera) Закавказья. Определительные таблицы. Труды Азербайджанского института микробиологии и эпидемиологии 5 (1): 119–216.
- Аргиропуло А.И. 1937. Материалы к познанию эктопаразитов Кавказа. III. О коллекции Aphaniptera из Кахского и Закатальского районов Азербайджана. Труды Азербайджанского филиала АН СССР. Сек. Зоол. Баку. 20: 87–101.
- Балашов Ю.С. 2000. Термины и понятия, используемые при изучении популяций и сообществ эктопаразитов. Паразитология 34 (5): 361–370.
- Белик В.П. 2013. Орниттогеографические связи и районирование Большого Кавказа. Стрепет 11 (1): 5–88.
- Дарская Н.Ф. 1964. К сравнительной экологии птичьих блох рода *Ceratophyllus* Curt., 1832. В кн.: Беклемишев В.Н., Тифлов В.Е. В сб.: Эктопаразиты. М., Издательство МГУ. 4: 31–180.
- Джамирзоев Г.С., Перевозов А.Г., Комаров Ю.Е., Тильба П.А., Мнацеканов Р.А., Караваев А.А., Букреев С.А., Пшегусов Р.Х., Гизатулин И.И., Поливанов В.М., Витович О.А., Хубиев А.Б. 2014. Птицы заповедников и национальных парков Северного Кавказа. В сб.: Труды заповедника «Дагестанский» 8 (1). Махачкала, Издательство «Geo Photo», 428 с.
- Исаева Э.В. 1971. Обзор фауны блох (Siphonaptera) Азербайджана. Проблемы особо опасных инфекций 1 (17): 177–195.
- Исаков Ю.А., Зимина Р.П., Панфилов Д.В. 1966. Животный мир. В сб.: Герасимов А.П. (ред.). Кавказ. М., Наука, 256–304.
- Кадацкая К.П. 1965. Новый для фауны Большого Кавказа вид блохи *Ceratophyllus geminus* Ioff, 1946. Известия АН Аз.ССР. Серия биология. Баку 4: 107–108.
- Кадацкая К.П. 1969. Экология блох краснохвостой песчанки южных предгорий Большого Кавказа в связи с их ролью в эпизоотологии чумы. Автореф. дис. канд. биол. наук. Саратов, 20 с.
- Кадацкая К.П., Сафаров Ш.М. 1982. Новые виды блох для фауны азербайджанской части Большого Кавказа. В кн.: Болезни с природной очаговостью на Кавказе. С. 66.
- Кадацкая К.П., Щирова Л.Ф., Гасанов С.З. 1985. Блохи обыкновенной полевки в Азербайджане В сб.: Актуальные вопросы эпиднадзора в природных очагах чумы. Ставрополь, 2– 8.
- Казаков В.П., Казакова Л.И. 2002. О значении некоторых видов блох грызунов горного Дагестана в хранении и передаче возбудителя чумы. В сб.: Сборник научных трудов Дагестанской противочумной станции. Махачкала, 44–49.
- Котти Б.К. 2005. К зоогеографии Кавказа. В сб.: Лиховид А. А., Рахилин В. К. (ред.) Современная биогеография. Москва-Ставрополь: ИЕЕТ РАН, Издательство СГУ, 216–223.
- Котти Б.К. 2011. Значение блох в природных очагах чумы на Кавказе. Медицинская паразитология и паразитарные болезни 4: 28–30.
- Котти Б.К. 2014. Видовое разнообразие блох (Siphonaptera) Кавказа. Ставрополь, Издательство Северо-Кавказского федерального университета, 132 с.
- Котти Б.К., Котова Е.Г. 2014. Фауна блох (Siphonaptera) млекопитающих междуречья Малой Лабы и Белой. Медицинская паразитология и паразитарные болезни 1: 35–37.
- Котти Б.К. 2018. Распространение и специфичность паразито-хозяйственных связей блох (Siphonaptera) на Центральном Кавказе. Паразитология 52 (6): 463–475.
- Котти Б.К., Жильцова М.В. 2019. Значение блох (Siphonaptera) в природных очагах чумы Паразитология 53 (6): 504–514.
- Котти Б.К., Стахеев В.В., Жильцова М.В. 2019. Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2: 30–36.
- Крыжановский О.Л. Состав и распространение энтомофаун земного шага. М.: КМК, 2002, 237 с.
- Лабунец Н.Ф., Дегтярева Л.В. 1988. О блохах летучих мышей на Северном Кавказе. Паразитология 19 (3): 177–180.
- Лисовский А.А., Шефтель Б.И., Савельев А.П., Ермаков О.А., Козлов Ю.А., Смирнов Д.Г., Стахеев В.В., Глазов Д.М. 2019. Млекопитающие России. Список видов и прикладные аспекты. Москва, 193 с.
- Матюшкин Е.Н. 1972. Смешанность териофауны Уссурийского края: ее общие черты, исторические корни и современные проявления в сообществах Среднего Сихотэ-Алиня. В сб.: Россолимо О.Л., Долгов В.А. (ред.). Сборник трудов Зоологического музея МГУ. М., МГУ, 13: 86–144.

- Медведев С.Г., Котти Б.К. 2011. Пути формирования фауны блох (Siphonaptera) Кавказа. *Паразитология* 45 (6): 470–487.
- Медведев С.Г., Котти Б.К. 2012. Паразито-хозяйинные связи и пути формирования фауны блох (Siphonaptera) Кавказа. *Энтомологическое обозрение* 91 (4): 714–734.
- Медведев С.Г., Котти Б.К., Вержуцкий Д.Б. 2019. Разнообразие блох (Siphonaptera) – переносчиков возбудителей чумы: паразит сусликов – блоха *Citellophilus tesquorum* (Wagner, 1898). *Паразитология* 53 (3): 179–197.
- Медведев С. Г., Вержуцкий Д.Б., Котти Б.К. 2020. Разнообразие переносчиков возбудителя чумы: полигостальные паразиты – блохи рода *Rhadinopsylla* Jordan et Rothschild, 1911 (Siphonaptera: Hystrichopsyllidae). *Паразитология* 54 (3): 205–231.
- Онищенко Г.Г., Кутырев В.В. 2004. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М., Медицина, 192 с.
- Павлинов И.Я., Лисовский А.А. 2012. Млекопитающие России: систематико-географический справочник. М., Товарищество научных изданий КМК, 604 с.
- Портенко Л.А. 1958. Систематический обзор животных Кавказского перешейка. II. Птицы – Aves. Животный мир СССР. М.-Л.: Издательство АН СССР, 220–260.
- Кутырев В.В., Попова А.Ю. 2016. Кадастр эпидемических и эпизоотических проявлений чумы на территории Российской Федерации и стран ближнего зарубежья (с 1876 по 2016 год). Саратов: ООО «Амирит». 248 с.
- Соколов В.Е., Темботов А.К. 1989. Млекопитающие Кавказа. Насекомоядные. М., Наука, 547 с.
- Степанян Л.С. 2003. Конспект орнитологической фауны России и сопредельных территорий (в границах СССР как исторической области). М., Академкнига, 808 с.
- Темботов А.К. 1972. География млекопитающих Северного Кавказа. Нальчик, Эльбрус, 245 с.
- Темботов А.К., Казаков Б.А. 1982. Позвоночные широтных зон и высотных поясов Северного Кавказа. В кн.: Темботов А.К. (ред.). Ресурсы живой фауны. Ростов, Издательство Ростовского университета, 2: 37–102.
- Тифлов В.Е., Скалон О.И., Ростигаев Б.А. 1977. Определитель блох Кавказа. Ставрополь, Ставропольское книжное издательство, 278 с.
- Шидловский М.В. 1976. Определитель грызунов Закавказья. Тбилиси, Мецниереба, 255 с.
- Jurik M. 1974. Bionomics of fleas in bird's nests in the territory of Czechoslovakia. *Acta Scientiarum Naturalium Brno*. 8 (10): 1–54.
- Wagner J., Argypulop A.I. 1934. Aphanipteren fauna des Azerbeidschan (ostlicher Teil Transkaukasiens) nebst Bemerkungen uber die Gattung *Nosopsyllus* Jord. *Zeitschrift fur Parasitenkunde* 7 (2): 217–232.

FLEAS (SIPHONAPTERA) OF MAMMALS AND BIRDS IN THE EASTERN CAUCASUS

B. K. Kotti, J. S. Artyushina

Key words: fleas, mammals, birds, host specificity, distribution. fauna, Eastern Caucasus

SUMMARY

A total of 94 flea species were revealed in the territory of the Eastern Caucasus. 16 of these species are parasites of birds, others are mammal parasites. Among 41 genera of the Caucasian fauna only *Caenopsylla*, *Phaenopsylla*, *Wagnerina*, and *Araeopsylla*, inhabiting the south of the Caucasus, are absent in the Great Caucasus. Parasites of some birds and carnivorous mammals, insectivores, and rodents are found from lowlands to highlands. A number of species, such as representatives of the genus *Callopsylla*, are associated with highlands, while other fleas are limited in distribution by semi-desert and steppe foothills and midlands, and are absent in the subalpine and alpine belts. Their main hosts can inhabit a wide range of heights or their distribution is limited.