

УДК 576.895.122

**ВОЗДЕЙСТВИЕ МЕТАЦЕРКАРИЙ *ECHINOSTOMA CAPRONI*
(TREMATODA) НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ МОЛЛЮСКОВ
РОДА *BIOMPHALARIA* (PULMONATA)**

© Г. Л. Атаев

Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена.
наб. р. Мойки, 48, С.-Петербург, 191186
E-mail: ataev@herzen.spb.ru
Поступила 14.06.2010

Инфрапопуляция партенит *Echinostoma caproni* имеет пролонгированный характер развития (Атаев и др., 2005). Однако в лабораторных условиях зараженные этим паразитом моллюски рода *Biomphalaria* погибают уже через 1—3 недели после начала эмиссии церкарий. Было высказано предположение, что причина этого явления заключается в «самозаражении» моллюсков церкариями, которые используют их как второго промежуточного хозяина. Изучение динамики накопления метацеркарий биомфалариями (как зараженных, так и незараженных редиями *Echinostoma caproni*), а также проведенные эксперименты, в которых разными способами снижалось количество церкарий вокруг моллюсков, подтвердили данное предположение. Очевидно, в природе патогенность метацеркарий для моллюсков менее выражена, так как концентрация церкарий снижается до значений, не вызывающих летального эффекта: часть их погибает, а часть использует в качестве хозяина других животных (Naas, 2000).

Ключевые слова: трематоды, метацеркарии *Echinostoma caproni*, выживаемость, *Biomphalaria*, моллюски.

Церкарии рода *Echinostoma* могут инцистироваться в разных видах брюхоногих и двухстворчатых моллюсков, других беспозвоночных, а также в головастиках лягушек, пресноводных рыбах и даже пиявках (Naas, 2000). В лабораторных условиях отмечено их инцистирование в слизи, образованной моллюсками, а в условиях *in vitro* — в кусочках тканей улиток (Beaver, 1937; Stein, Bash, 1977; Fried, Bennet, 1979; Christensen, 1980; Anderson, Fried, 1987; Naas, 2000). Далеко не во всех случаях инцистирование личинок приводит к нормальному развитию метацеркарий и формированию инвазионной мариты, однако, приведенные сведения свидетельствуют о широте круга объектов, в которых оно возможно.

В настоящей работе экспериментально изучены последствия инвазии метацеркариями *Echinostoma caproni* для моллюсков рода *Biomphalaria*,

являющихся в природе как первыми, так и вторыми промежуточными хозяевами этого сосальщика. Более того, есть данные о способности церкарий эхиностом инцистироваться в зараженных моллюсках до эмиссии (Haseeb, Eveland, 2000). О характере развития инфрапопуляции партенит *Echinostoma caproni* опубликовано большое количество работ (Reddy, Fried, 1996; Ataev et al., 1997; Атаев и др., 2005, 2007, и др.). Гораздо меньше имеется информации о биологии и поведении сформированных ими церкарий (Naas, 2000). И совсем скудными сведениями мы располагаем о развитии метацеркарий и их влиянии на организм зараженного моллюска (Fried, Huffman, 1996; Reddy, Fried, 1996; Haseeb, Eveland, 2000).

Поводом для проведения данного исследования явилась информация об относительно коротком времени жизни биомфаларий после заражения партенитами *E. caproni*. В лабораторных условиях уже через 1—3 недели после начала эмиссии церкарий наблюдалась массовая гибель моллюсков. Учитывая пролонгированный характер развития инфрапопуляции партенит этого вида (Атаев и др., 2005), было высказано предположение, что причиной этого феномена является патогенность метацеркарий для улиток.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Экспериментальная часть работы была выполнена в Лаборатории биологии животных Перпеньянского университета (Франция). Объектом исследования стали трематоды *Echinostoma caproni*, которыми экспериментально заражали 2 вида рода *Biomphalaria* — *B. glabrata* и *B. pfeifferi* (оба являются природными хозяевами *E. caproni*).

Аквариумы на время эксперимента были помещены в хладотермостат (температура 26 °С, фоторежим 12:12). Вода в аквариумах с *B. glabrata* аэрировалась. Все моллюски ежедневно получали корм (сушеные листья салата); вода сменялась каждые 4 дня. Аквариумы просматривали ежедневно. Погибших улиток вскрывали для подсчета количества аккумулярованных ими метацеркарий и анализа развития инфрапопуляции партенит (для зараженных особей).

Схема опыта. Для эксперимента были отобраны 50 моллюсков *Biomphalaria glabrata* (диаметр раковины 10—12 мм) и 200 моллюсков *B. pfeifferi* (диаметр раковины 6—8 мм). Все эти моллюски были заражены *E. caproni* в один день: в первом случае доза заражения составила 9 мирацидиев, во втором — 3 мирацидия. В дальнейшем зараженные улитки в зависимости от условий составили следующие серии опытов.

Серия 1: 50 зараженных моллюсков *B. glabrata* содержались в 8-литровом аквариуме.

Серия 2: 50 зараженных моллюсков *B. pfeifferi* содержались в 5-литровом аквариуме.

Серия 3: 50 зараженных моллюсков *B. pfeifferi* были помещены в 5-литровый аквариум с периодически (каждые 1—3 ч в течение светлого времени суток) фильтруемой водой для снижения концентрации церкарий в аквариуме.

Серии 4 и 5: 50 зараженных моллюсков *B. pfeifferi* (серия 4) содержались в течение опыта в 10-литровом аквариуме совместно с 50 незаражен-

ными моллюсками того же вида и сходного размера (серия 5). Незараженные особи были призваны сыграть роль биологического фильтра — взять на себя часть церкарий.

В качестве контрольных были использованы 50 незараженных моллюсков *B. glabrata* (серия 6) и 50 незараженных моллюсков *B. pfeifferi* (серия 7), помещенных соответственно в 8- и 5-литровый аквариумы.

Изучение метацеркарий проводилось как на живом материале, полученном непосредственно в процессе вскрытия моллюсков, так и на тотальных и гистологических препаратах, приготовленных из фиксированного в жидкости Буэна материала. Тотальные препараты окрашивались кармином. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм окрашивались гематоксилином Эрлиха с последующей подкраской водным раствором эозина.

Перед фиксацией для СЭМ материал промывался в растворе Чернина. В качестве фиксатора применялся 3%-ный глутаральдегид на 0.1 М фосфатном буфере. Препараты изучались на микроскопе «ISI super III—A».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Обычно церкарии *Echinostoma caproni* внедряются в ткани моллюсков непосредственно из мантийной полости. Лишь отдельные личинки проникают в моллюска через покровы мантийного воротничка. И уж совсем редки (во всех отмеченных случаях безуспешны) попытки проникновения через покровы головы или ноги. В мантийной полости большинство церкарий устремляется вглубь полости и далее через выделительную пору мигрируют в почку, откуда через реноперикардальное отверстие проникают в полость перикардия. При этом часть церкарий инцистируется по пути — в области почки, но чаще они доходят до перикардальной полости.

При большом скоплении церкарий в мантийной полости многие из них проникают в мантию или дорзальную часть тела моллюска. Церкарии (рис. 1, А) прорывают эпителий и затем с помощью резких сокращений протискивают свое тело. При этом хвост отбрасывается (рис. 1, Б; 2, Б) и остается снаружи. Продолжительность инцистирования церкарий, как правило, занимает не более 4 ч после внедрения в моллюска.

В процессе инцистирования тело личинки сильно сгибается на вентральную сторону (рис. 1, В), а затем за счет функционирования многочисленных цистогенных желез быстро одевается трехслойной студенистой оболочкой (Irvin, Fried, 1990; Krejci, Fried, 1994; Fried, Huffman, 1996). В дальнейшем поверхность метацеркарий покрывается соединительнотканной капсулой, образованной за счет оседающих на нее амeboцитов. Такие капсулы могут быть достаточно мощными и зачастую скрепляют скопления цист в единый конгломерат (рис. 1, Г). Метацеркарии обычно округлой формы, несколько сплющены в дорсо-вентральном направлении. Их диаметр составляет 155 ± 1.9 мкм ($n = 100$). Вначале метацеркарии окружены прозрачной оболочкой, а через неделю (время достижения инвазионности) она становится матовой. Метацеркарии сохраняют инвазионность более месяца. Через 50 дней после инцистирования начинается гибель личинок. Их размеры уменьшаются вдвое, поверхность становится неровной. Эти

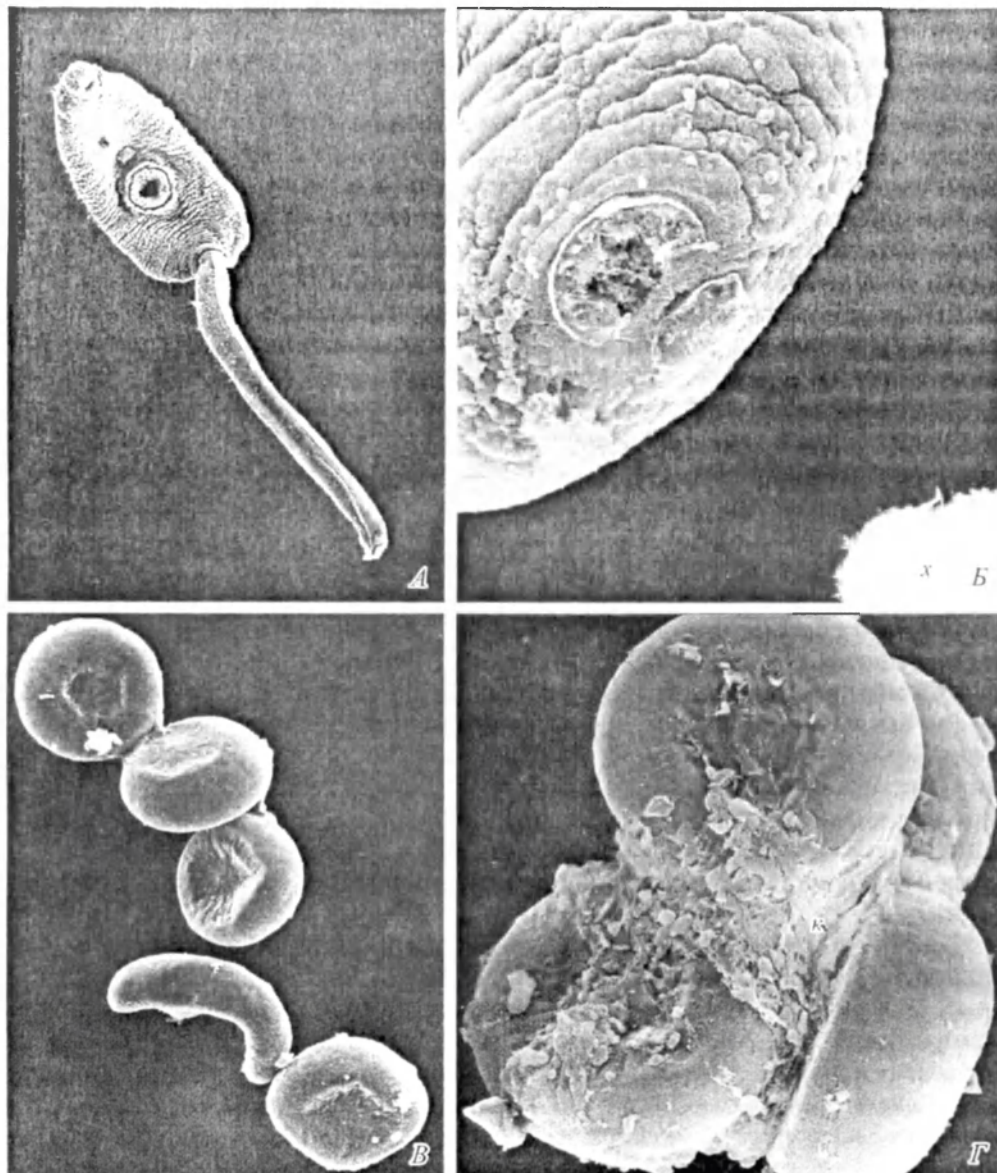


Рис. 1. Сканирующие фотографии церкарий (А, Б) и метацеркарий (В, Г) *Echinostoma caproni*. к — капсула, образованная вокруг метацеркарий за счет оседающих на их поверхность амёбоцитов, х — хвост.

Fig. 1. SEM photos of *Echinostoma caproni* cercariae (A, B) and metacercariae (B, Г).

данные противоречат результатам Кристенсена (Christensen, 1980), который определил срок жизни метацеркарий в 4 мес.

В редких случаях удавалось наблюдать эксцистирование отдельных метацеркарий в моллюсках. Однако эти «мариты» заметно отличались по своей окраске и морфологии от развивающихся в дефинитивном хозяине и даже в случае последующего попадания в последнего были неспособны

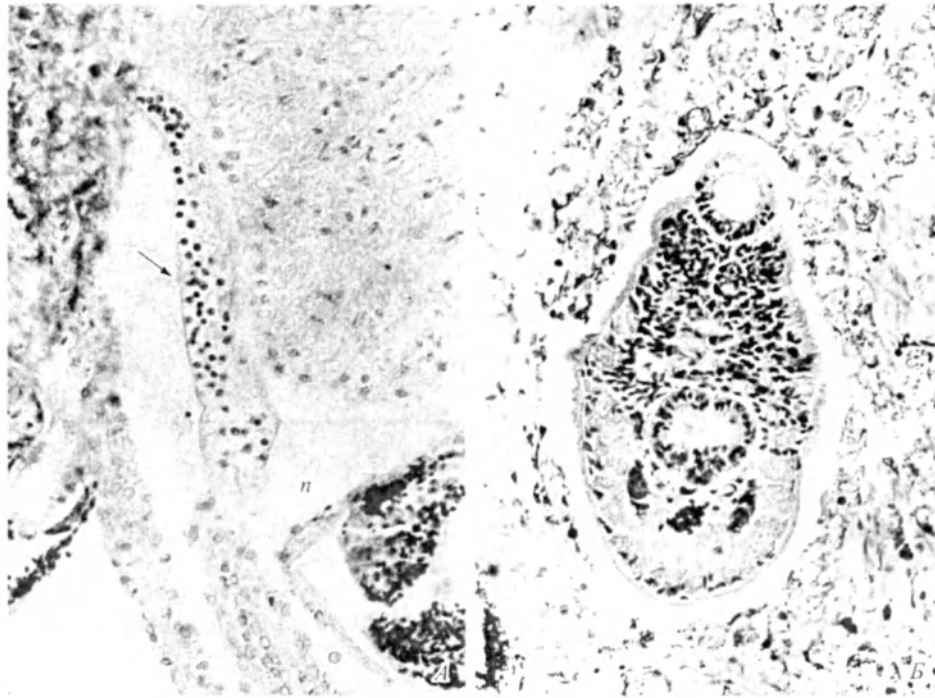


Рис. 2. Инцистирование церкарии *Echinostoma caproni* в моллюске *Biomphalaria glabrata*. А — гистологический срез через полость перикардия (п). Стрелкой отмечен хвост церкарии, отброшенный перед инцистированием. Б — начало формирования метацеркарии под мантийным эпителием моллюска.

Fig. 2. Encystation of *Echinostoma caproni* cercaria in mollusc host *Biomphalaria glabrata*.

завершить свое развитие. Вероятно, отмеченные случаи можно рассматривать как проявление дегенерации метацеркарий, так как для многих видов эхиностоматид необходимы определенные условия эксцистирования (Haas, 2000). Это не только температурные, механические, осмотические, химические и прочие характеристики окружающей среды, вызывающие пассивное разрушение оболочки метацеркарии. Для ряда видов показана активная роль ювенильной мариты, разрушающей изнутри цисту скоординированными движениями тела и присосок и особыми энзимами. Более того подобное поведение регулируется рецепторами (Sukhdeo, Mettrick, 1987, и др.).

Выживаемость биомфаларий при «самозаражении». Первый моллюск *B. glabrata* (серия 1) погиб на 24-й день после заражения (п. з.). Примерно до 30-го дня п. з. отмечались лишь единичные случаи гибели улиток, но затем их смертность заметно усилилась и примерно с 40-го дня п. з. приняла массовый характер (рис. 3). Максимальная продолжительность выживания зараженных моллюсков *B. glabrata* составила 72 дня. При этом 50 % улиток погибли через 48 дней п. з. Среди моллюсков *B. glabrata* контрольной группы (серия 6) было зарегистрировано всего лишь 2 случая гибели (4 %): через 49 и 60 дней с начала опыта.

Гибель моллюсков *B. pfeifferi* серии 2 становится заметной через 3 недели п. з. (начало эмиссии церкарий), а примерно к 4 неделям п. з. принимает

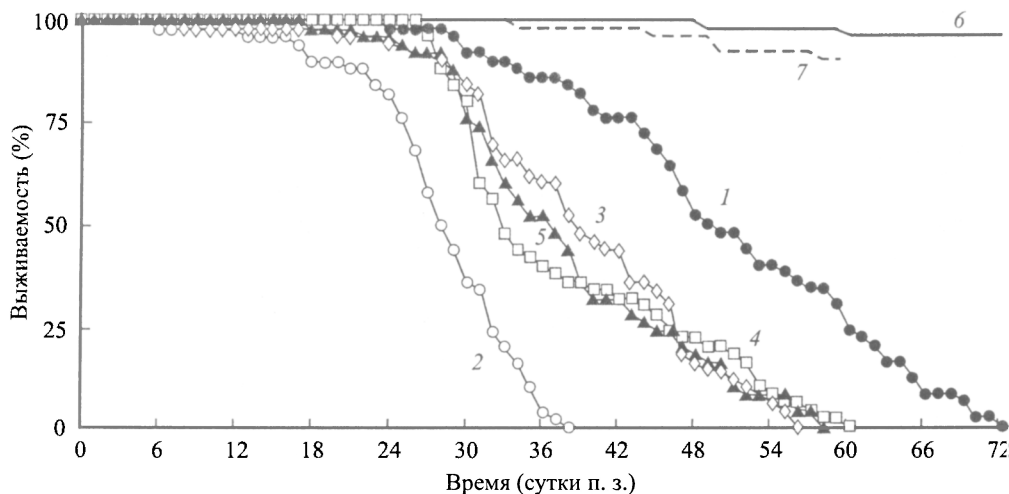


Рис. 3. Выживаемость моллюсков *Biomphalaria pfeifferi* и *B. glabrata* в условиях заражения церкариями *Echinostoma caproni*.

Характеристика серий (1—6) в разделе «Материал и методика».

Fig. 3. Survival of mollusc hosts *Biomphalaria pfeifferi* and *B. glabrata* infested with *Echinostoma caproni* cercariae (see characteristics of series 1—6 in Material and methods).

массовый характер (рис. 3). Последний моллюск в этой серии погиб через 38 дней п. з. В контрольной группе (серия 7) за все время эксперимента погибло только 5 особей (10 %).

Кривые выживаемости зараженных моллюсков *B. pfeifferi*, для которых разными способами снижалась концентрация церкарий (серии 3, 4), оказались сходны между собой и кривой выживаемости незараженных партенитами моллюсков (серия 5). При этом максимальная продолжительность жизни во всех трех сериях составила около двух месяцев (рис. 3). Различия между кривыми серий 3 и 4 на уровне L_{50} носят непринципиальный характер. Если моллюски серии 4 достигли этого уровня через 33 дня п. з., то представители серии 3 — через 39 дней п. з., а серии 5 (незараженные партенитами улитки) — через 37 дней п. з. Следовательно, анализ кривых выживаемости биомфаларий подтвердил предположение о патогенном воздействии на них со стороны метацеркарий *Echinostoma caproni*.

Факторы, определяющие количество метацеркарий. Погибшие в ходе экспериментов улитки были вскрыты для подсчета метацеркарий. Выяснилось, что моллюски разных видов заметно отличаются по способности «накапливать» метацеркарий. Максимальное количество метацеркарий, обнаруженное в *Biomphalaria pfeifferi* (диаметр раковины 7.5 мм), составило 1585 цист, а в *B. glabrata* (диаметр раковины 14.8 мм) — 5850 цист. Еще заметнее различие между моллюсками разных видов при сравнении средних значений численности метацеркарий на момент гибели улиток: 136 ± 28 ($n = 60$) для *Biomphalaria pfeifferi* и 2398 ± 426 ($n = 36$) для *B. glabrata*.

Межвидовое различие прослеживается и при анализе динамики аккумуляции метацеркарий. Следует отметить, что количество метацеркарий может значительно различаться даже между улитками одной серии, погиб-

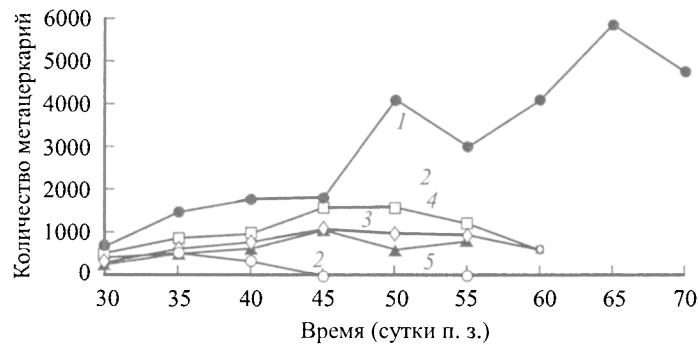


Рис. 4. Динамика аккумуляции метацеркарий *Echinostoma caproni* (максимальные значения) моллюсками *Biomphalaria pfeifferi* (серии 2—5) и *B. glabrata* (серия 1).

Характеристика серий в разделе «Материал и методика».

Fig. 4. Dynamics of the *Echinostoma caproni* metacercariae accumulation (maximum values) in mollusc hosts *Biomphalaria pfeifferi* (series 2—5) and *B. glabrata* (series 1) (see characteristics of series in Materials and methods).

шими в один день. Поэтому для построения графика динамики аккумуляции были использованы максимальные значения численности цист среди моллюсков, погибших в один день (рис. 4).

Через месяц п. з. количество метацеркарий в моллюсках всех серий достигает нескольких сотен. Максимальное их число (700 цист) отмечено в *B. glabrata*. Для *B. pfeifferi* оно составило от 250 (серия 5) до 500 цист (серия 4). В дальнейшем межвидовое различие по этому параметру усиливается. Причем, если для *B. glabrata* характерно постоянное возрастание количества метацеркарий (максимальное значение зарегистрировано на 65-й день п. з. — 5850 цист), то моллюски *B. pfeifferi* вышли на максимальный уровень зараженности уже на 45-й день п. з. (1100, 1580, 1050 цист соответственно для серий 3, 4, 5). Однако к концу эксперимента максимальное число метацеркарий в этих улитках составило сходные величины (630, 610, 820 цист соответственно для серий 3, 4, 5).

Данные о максимальном количестве метацеркарий в моллюсках разных серий показывают, что достижение этих показателей не строго коррелирует со временем, прошедшим после начала эксперимента. Для проверки этого вывода был выполнен регрессионный анализ зависимости между временем, прошедшим с начала инвазии улиток (анализировались только серии 1, 2 и 5), и количеством аккумулярованных ими метацеркарий (для определения достоверности аппроксимации во всех случаях применялся общепринятый аппарат дисперсионного анализа). Результаты регрессионного анализа показали достоверное увеличение количества метацеркарий в течение эксперимента во всех группах (рис. 5, А—В).

Несмотря на достаточно высокие значения полученных коэффициентов, отмечались случаи, когда число цист на момент гибели моллюска заметно отставало от ожидаемого. В качестве факторов, способных снижать уровень их аккумуляции, были рассмотрены общая численность инфрапопуляции партенит и размер моллюска.

Для *B. glabrata* зависимость соотношения «количество метацеркарий / численность инфрапопуляции» партенит оказалась достоверной на 5%-ном

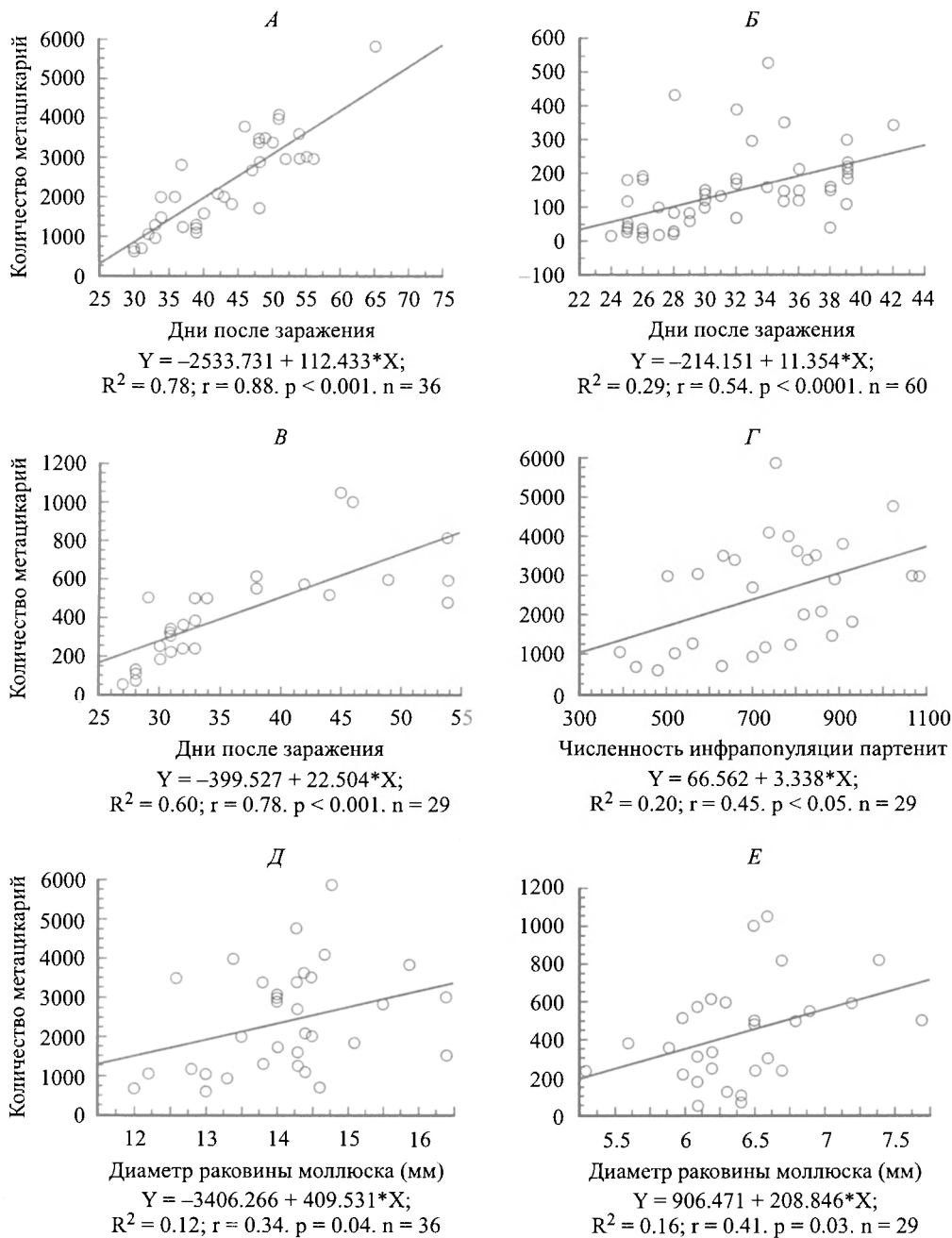


Рис. 5. Эмпирические данные и теоретическая линия регрессии зависимости: между количеством метацеркарий *Echinostoma caproni* (X) в моллюсках *Biomphalaria glabrata* (А) и *B. pfeifferi* серии 2 (Б) и серии 5 (В) и временем после инвазии (Y); между количеством метацеркарий *Echinostoma caproni* (X) и численностью инфрапопуляции партенит в моллюсках *Biomphalaria glabrata* (Y) (Г); между количеством метацеркарий *Echinostoma caproni* (X) и размерами зараженных партенитов моллюсков *Biomphalaria glabrata* (Y) (Д); между количеством метацеркарий *Echinostoma caproni* (X) и размерами незараженных партенитов моллюсков *Biomphalaria pfeifferi* серии 5 (Y) (Е).

уровне значимости ($p < 0.05$, $n = 29$) (рис. 5, Г). Относительно низкая корреляция указывает на наличие заметной изменчивости количества цист среди моллюсков со сходным количественным составом инфрапопуляции партенит. Для *B. pfeifferi* данный вид связи оказался недостоверным.

Вероятно, такая зависимость носит косвенный характер. Есть данные о способности церкарий инцистироваться до выхода из моллюска-хозяина (Naseeb, Eveland, 2000), но процент таких случаев невелик, поэтому «самозаражение» метацеркариями не оказывает заметного влияния на выживаемость улиток. С другой стороны, заражение моллюсков церкариями осуществляется неравномерно. Это особенно заметно в начале процесса аккумуляции (25—30 дней п. з.). В то время как в одних моллюсках насчитывалось до ста и более метацеркарий, в других их количество не превышало нескольких десятков.

Возможно, к гибели моллюсков приводит не только накопление критического количества цист, которое он способен вместить, но и скорость этого процесса. Инцистирование в течение короткого времени даже нескольких десятков личинок может привести к летальному исходу, несмотря на то что потенциальная паразитоемкость моллюска еще не исчерпана.

В качестве другого фактора, влияющего на уровень накопления метацеркарий, был рассмотрен размер (диаметр раковины) моллюска-хозяина. Выяснилось, что для *B. glabrata* такая связь статистически достоверна (рис. 5, Д). Для *B. pfeifferi* серии 2 связь между анализируемыми признаками оказалась недостоверной.

Безусловно, при трактовке этих результатов требуется большая осторожность. С одной стороны, тот факт, что более крупные моллюски *B. glabrata* по способности к аккумуляции цист значительно опережают *B. pfeifferi* всех серий, указывает на важность размерного фактора. Действительно, у более крупных улиток больше энергетических и пространственных ресурсов (в частности больше объем перикардия, являющегося основным местом концентрации метацеркарий *Echinostoma caproni*). Соответственно в условиях постепенного накопления цист моллюски больших размеров способны при прочих равных условиях выдержать более высокую интенсивность инвазии. Однако, как отмечалось, поступление цист носит неравномерный характер. Кроме того, ранее была показана прямая зависимость между диаметром моллюска и численностью обитающих в нем партенит (Атаев и др., 2005). Очевидно, совместное воздействие на организм хозяина со стороны большего числа редий и многочисленных метацеркарий также ускоряет гибель хозяина.

В пользу данного предположения говорят положительные результаты регрессионного анализа, выполненного для *B. pfeifferi* серии 5 (неза-

Fig. 5. Correlation (raw data and regression line) between the number of the *Echinostoma caproni* metacercaria (X) in mollusc hosts *Biomphalaria glabrata* (A) and *B. pfeifferi* of 2nd (B) and 5th (B) series and time after invasion (Y); between the number of the *Echinostoma caproni* metacercariae (X) and abundance of the infrapopulation of partenites in mollusc host *Biomphalaria glabrata* (Y) (Г); between the number of the *Echinostoma caproni* metacercariae (X) and size of the mollusc hosts *Biomphalaria glabrata* infested with parthenitae (Y) (Д); between the number of the *Echinostoma caproni* metacercariae (X) and size of the molluscs *Biomphalaria pfeifferi* of 5th series noninfested with parthenitae (Y) (E).

раженных партенитами и призванных привлекать церкарий, эмитированных биомфалариями серии 4). Зависимость «количество метацеркарий / диаметр раковины» описывается для улиток серии 5 уравнением линейной регрессии (рис. 5, E).

ОБСУЖДЕНИЕ

Патогенность метацеркарий многих трематод для хозяина отмечена давно. Более того в некоторых случаях она определяется как более сильный фактор, «чем влияние, оказываемое партенитами на первого промежуточного или маритой на дефинитивного хозяина трематод того же самого вида» (Гинецинская, 1968, с. 168). В большинстве работ рассматриваются метацеркарии трематод, вторым промежуточным хозяином которых являются не моллюски, а представители других таксонов животных, прежде всего, рыбы, что объясняется экономическим значением последних. В частности были получены многочисленные сведения о патогенности метацеркарий сем. Diplostomatidae (Fuhrmann, 1916; Szidat, 1924; Timmerman, 1936; Ляйман, Садковская, 1952; Erasmus, 1959; Шигин, 1993, и др.).

Были также описаны последствия заражения метацеркариями амфибий (Fried, Huffman, 1996) и различных беспозвоночных: ракообразных (Stunkard, 1957), насекомых, пиявок (Анохин, 1966, Гинецинская, 1968) и моллюсков. В то же время в большинстве работ, посвященных метацеркариям, вопрос о характере их взаимоотношений с хозяином вообще не рассматривается (Судариков и др., 2002).

В результате проведенного изучения воздействия, оказываемого метацеркариями *Echinostoma caproni* на биомфаларий, было установлено, что именно накопление моллюсками (как зараженными, так и незараженными) критического количества цист приводит к гибели улиток. При этом уровень интенсивности инвазии метацеркариями, достижение которого вызывает летальный эффект, зависит от многих факторов: размеров и физиологического состояния хозяина, динамики его заражения церкариями и пр.

Размеры моллюска. Сразу отметим, что эхиностомные церкарии могут проникать в моллюсков любого размера и возраста. Например, личинки *E. trivolvis* успешно заражают новорожденных *Biomphalaria glabrata* (диаметр раковины 0.7—1.0 мм), хотя это вызывает повышенную смертность улиток (Fried et al., 1995).

Очень интересная серия экспериментов по заражению моллюсков *B. glabrata* церкариями *Echinostoma liei* (syn. *E. caproni*) была осуществлена Курисом и Варреном (Kuris, Warren, 1980). Они первыми обратили внимание на реальность угрозы для жизни моллюсков со стороны метацеркарий и даже предложили использовать данный фактор в проведении биологического контроля за численностью биомфаларий, многие из которых являются природными хозяевами шистозом, опасных для человека.

Эти авторы использовали схему экспериментов несколько отличную от нашей. В наших опытах моллюски заражались церкариями спонтанно, и мы практически не вмешивались ни в динамику этого процесса, ни в количественные его характеристики. Только в некоторых опытах, используя

механическую или биологическую фильтрацию, пытались снизить концентрацию церкарий в аквариумах.

В одном из своих экспериментов Курис и Варрен также показали гибель биомфаларий в результате «самозаражения» церкариями ими же эмитирующими. В других опытах зараженные и незараженные партенитами улитки находились в одном аквариуме, но разделялись пластинами с многочисленными отверстиями разного диаметра. Соответственно от размера этих отверстий зависела способность церкарий проникать к незараженным моллюскам. В ходе этих экспериментов была зарегистрирована гибель незараженных партенитами улиток в результате заражения церкариями. Были также проведены интересные эксперименты по заражению моллюсков разных размеров фиксированным количеством личинок.

На основании результатов этих и ряда других оригинальных экспериментов авторы пришли к выводам, подтвержденным нашим исследованием. Это касается количества метацеркарий, аккумулированных биомфалариями; прямой зависимости длительности выживания улиток от их размеров; интенсивности заражения церкариями и пр. К сожалению, в приведенной работе выполнен только предварительный анализ полученных сведений.

Способность более крупных моллюсков накапливать большее количество цист хорошо прослеживается при сопоставлении наших данных, полученных при изучении двух биомфаларий — *Biomphalaria pfeifferi* и примерно вдвое более крупных *B. glabrata* (если количество цист в *B. pfeifferi* в среднем не превышало нескольких сотен, то в *B. glabrata* достигало нескольких тысяч). Объяснений такой закономерности может быть несколько, но основной причиной, вероятно, является наличие у крупных моллюсков больших пространственных ресурсов для накопления метацеркарий. Прежде всего это значительно более объемная полость перикардия, являющаяся основным местом аккумуляции цист. Допускаем, что энергетические возможности хозяина при этом являются второстепенными.

Это предположение подтверждается результатами эксперимента по совместному содержанию *B. pfeifferi*, зараженных и незараженных партенитами. Было установлено, что кривые смертности моллюсков обеих групп очень сходны, особенно на уровне L_{50} . Следовательно, зараженность биомфаларий партенитами в условиях интенсивной инвазии церкариями не оказывает значительного влияния на их выживаемость. Учитывая большие энергетические затраты моллюсков на поддержание инфрапопуляций редий, становится очевидной относительная нейтральность со стороны метацеркарий по отношению к этим ресурсам. В пользу этого вывода свидетельствует и общий анализ биологии метацеркарий эхиностоматид.

Жизненный цикл представителей этого семейства, как правило, включает второго промежуточного хозяина, хотя некоторые виды рода *Echinochasmus* сохранили способность инцистироваться во внешней среде (Faust, 1917; Beaver, 1937; Bearup, 1960, цит. по: Галактионов, Добровольский, 1987) подобно личинкам Fasciolidae, Notocotylidae и Philophthalmidae (церкарии *Philophthalmus rhionica* вообще способны к заражению дефинитивного хозяина, минуя фазу адолескарии (Тихомиров, 1980)).

Церкарии других эхиностоматид попадают в моллюска (не рассматриваем других промежуточных хозяев, например, аннелид, насекомых, ам-

фибий, рыб и др.) не вызывая нарушения целостности его покровов. Они проникают через пневмостом в мантийную полость моллюсков и там инцистируются. Наконец, третью группу составляют наиболее специализированные личинки, способные к активному проникновению в моллюска через покровы. При этом они используют элементы вооружения и секрет специализированных «метацеркарных головных желез» (А. А. Добровольский, личное сообщение).

Личинки *Echinostoma caproni*, очевидно, занимают промежуточное положение между вторым и третьим типами проникновения во второго промежуточного хозяина. Через пневмостом они попадают в мантийную полость, но в ней не инцистируются, а через выделительную пору и далее по реноперикардиальному каналу проникают в полость перикардиа, где и превращаются в метацеркарий. Однако часть личинок внедряется непосредственно в покровы мантийной полости и инцистируется в субэпителиальном слое, почке и пр. Попытки отдельных церкарий проникнуть в моллюска через его наружные покровы оказываются удачными только при пенетрации в мантийный воротничок.

Все это свидетельствует о глубокой специализации церкарий *E. caproni*. В то же время сформированные ими метацеркарии сохраняют многие примитивные черты. Они окружены мощной многослойной оболочкой (усиленной соединительнотканной капсулой, сформированной за счет клеточных элементов гемолимфы моллюска), которая, с одной стороны надежно изолирует их от защитных реакций моллюска, а с другой — исключает доступ к энергетическим ресурсам (Laurie, 1974; Irwin, Fried, 1990).

Отсутствие или, скорее, слабая метаболическая связь между паразитом и хозяином ограничивает энергетическую базу процесса маритогонии запасами, полученными при развитии в первом промежуточном хозяине и не растраченными церкариями. Это сближает эхиностоматидных метацеркарий с адолескариями фасциолид и нотокотилид и характеризует их как примитивных относительно метацеркарий «высших» трематод. Последние окружены тонкостенной цистой или полностью лишены ее, а барьерные функции могут переходить к многослойной капсуле (мантии), формируемой из фибробластов хозяина (Березанцев, Добровольский, 1968). Конечно, полностью исключать энергетические затраты со стороны моллюсков на созревание метацеркарий нельзя. То же проявление клеточного иммунитета, безусловно, требует таких затрат, особенно при высокой интенсивности инвазии.

Мы достаточно подробно остановились на характере взаимоотношений метацеркарий *E. caproni* со вторым промежуточным хозяином прежде всего для обоснования вывода, что именно от размеров последнего зависит аккумулированное им количество цист. Гибель моллюсков обусловлена, скорее всего, механической закупоркой всех их жизненно важных протоков и полостей, а также затрудненной работой сердца вследствие заполнения метацеркариями перикардиальной полости. Кроме того, для организма хозяина не проходят бесследно и многочисленные разрушения, возникающие при внедрении церкарий.

Вполне вероятно, что моллюскам, ослабленным паразитированием редий, плохими условиями обитания или другими причинами, сложнее выдерживать заражение метацеркариями. В условиях интенсивного зараже-

ния церкариями моллюски в любом случае обречены на гибель. Именно такая ситуация складывается в лабораторных условиях, когда концентрация церкарий в аквариумах достигает немислимых для природных биотопов значений. Очевидно, в природе лишь небольшая часть церкарий способна обнаружить хозяина и внедриться в него. К тому же в лабораторных условиях церкарии эхиностоматид не отличаются особой избирательностью и внедряются как в моллюсков разных видов, так и других животных (Evans et al., 1981; Evans, Gordon, 1983; McCarthy, Kanev, 1990; Fried et al., 1997). В частности *E. caproni* могут использовать в качестве второго промежуточного хозяина четырнадцать видов пульмонат, относящихся к разным таксономическим группам, и несколько видов амфибий (Fried, Huffman, 1996).

Отмеченные особенности биологии церкарий *E. caproni*, безусловно, снижают возможность самозаражения моллюсков в природных биотопах до минимальных значений, не вызывающих летального эффекта. Действительно, не удавалось обнаружить отклонений в развитии и размножении *Biomphalaria glabrata*, являющихся носителями нескольких десятков цист. Более того такие моллюски способны не только заразиться *E. caproni*, но и обеспечивать возможность паразитам сформировать зрелую инфрапопуляцию.

Таким образом, гибель биомфаларий в эксперименте наступает прежде всего вследствие самозаражения церкариями, ими же и эмитируемыми. Соответственно в природе действие данного фактора должно быть ослаблено и не играть той роли, что показана в лабораторных условиях.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (№ 10-04-00938а), гранта Министерства образования «Развитие научного потенциала высшей школы» 2.1.1/5290, стипендии Фонда им. В. И. Вернадского для аспирантов.

Список литературы

- Атаев Г. Л., Добровольский А. А., Исакова Н. П. 2005. Формирование инфрапопуляции партенит *Echinostoma caproni* (Digenea: Echinostomatidae). Паразитология. 39 (3): 221—232.
- Атаев Г. Л., Добровольский А. А., Исакова Н. П. 2007. Размножение партенит трематод *Echinostoma caproni* (Digenea: Echinostomatidae). Паразитология. 41 (6): 512—527.
- Анохин И. А. 1966. Суточный ритм муравьев, инвазированных метациркариями *Discoscoelium lanceatum*. Докл. АН СССР. 166: 757—759.
- Березанцев Ю. А., Добровольский А. А. 1968. Процессы инкапсуляции метациркариев трематод *Posthodiplostomum cuticola* (Nordmann, 1832) Dubois, 1936 в рыбах. Тр. Астрахан. заповед. Астрахань. 11: 7—12.
- Галактионов К. В., Добровольский А. А. 1987. Гермафродитное поколение трематод. Л.: Наука. 193 с.
- Гинецинская Т. А. 1968. Трематоды, их жизненные циклы, биология и эволюция. Л.: Наука. 411 с.
- Ляйман Э. М., Садковская О. Д. 1952. Чернопятнистое заболевание карпов и меры борьбы с ним. Тр. Науч.-исслед. ин-та пруд. и озерно-речн. рыбн. хоз-ва. УССР. 8: 108—116.

- Судариков В. Е., Шигин А. А., Курочкин Ю. В., Ломакин В. В., Стенько Р. П., Юрлова Н. И. 2002. Метацеркарии трематод — паразиты пресноводных гидробионтов центральной России. 1. М.: Наука. 297 с.
- Тихомиров И. А. Жизненный цикл *Philophthalmus rhionica* sp. nov. (Trematoda: Philophthalmidae): Дис. ... канд. биол. наук. ЛГУ. 1980. 219 с.
- Шигин А. А. 1993. Трематоды фауны России и сопредельных регионов. Род *Diplostomum*. Мариты. М.: Наука. 208 с.
- Anderson R. M., Fried B. 1987. Experimental infection of *Physa heterostropha*, *Helisoma trivolvis* and *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda) with *Echinostoma revolutum* (Trematoda) cercariae. *Journ. Parasitol.* 73: 49—54.
- Ataev G. L., Dobrovolskij A., Fournier A., Jourdane J. 1997. Migration and development of mother sporocysts of *Echinostoma caproni* (Digenea: Echinostomatidae). *Journ. Parasitol.* 83: 444—453.
- Beaver P. C. 1937. Experimental studies of *Echinostoma revolutum* (Froelich) a fluke from birds and mammals. III. *Biol. Monogr.* 15: 7—96.
- Christensen N. Ø. 1980. *Echinostoma revolutum*: Labeling of miracidia with radioselenium in vivo and assay for host finding. *Exper. Parasitol.* 50, 67—73.
- Erasmus D. A. 1959. The migration of *Cercaria* X Baylis (Strigeida) within the fish intermediate host. *Parasitology.* 49: 173—190.
- Evans N. A., Gordon D. M. 1983. Experimental observations on the specificity of *Echinoparyphium recurvatum* toward second intermediate hosts. *Zeitschr. Parasitenk.* 69: 217—222.
- Evans N. A., Whitfield P. J., Dobson A. P. 1981. Parasite utilization of a host community: the distribution and occurrence of metacercarial cysts of *Echinoparyphium recurvatum* (Digenea: Echinostomatidae) in seven species of mollusc at Harting Pond, Sussex. *Parasitology.* 83: 1—12.
- Faust E. C. 1917. Life history studies on Montana trematodes. III. *Biol. Monogr.* 4: 101 p.
- Fried B., Bennet M. C. 1979. Studies on encystment of *Echinostoma revolutum* cercariae. *Journ. Parasitol.* 65: 38—40.
- Fried B., Idris N., Ohsawa T. 1995. Experimental infection of juvenile *Biomphalaria glabrata* with cercariae of *Echinostoma trivolvis*. *Journ. Parasitol.* 81: 308—310.
- Fried B., Huffman J. 1996. The biology of the intestinal trematode *Echinostoma caproni*. *Advances in Parasitology.* 38: 311—368.
- Fried B., Schmidt K. A., Sorensen R. E. 1997. In vivo and ectopic encystment of *Echinostoma revolutum* and chemical excystation of the metacercariae. *Journ. Parasitol.* 83: 251—254.
- Fuhrmann O. 1916. Notes helminthologique Suisse. II. Une nouvelle espece de cercaire a que fourchue. *Rev. Suisse zool.* 24 (4): 389—393.
- Haseeb M. A., Eveland L. K. 2000. Human echinostomiasis: mechanisms of pathogenesis and host resistance. In: *Echinostomes as experimental models for Biological Research.* Kluwer Academic publishers: 83—98.
- Haas W. 2000 The behavioral biology of echinostomes. In: *Echinostomes as experimental models for Biological Research.* Kluwer Academic publishers: 175—197.
- Irwin S. W. B., Fried B. 1990. Scanning and transmission electron microscopic observations on metacercariae of *Echinostoma trivolvis* and *Echinostoma caproni* during in vitro excystation. *Journ. Helminthol. Soc. Wash.* 57: 79—83.
- Krejci K. G., Fried B. 1994. Light and scanning electron microscopic observations of the eggs, daughter rediae, cercariae, and encysted metacercariae of *Echinostoma trivolvis* and *E. caproni*. *Parazitol. Res.* 80: 42—47.
- Kuris A. M., Warren J. 1980. Echinostome cercarial penetration and metacercarial encystment as mortality factors for a second intermediate host, *Biomphalaria glabrata*. *Journ. Parasitol.* 66: 630—635.
- Laurie J. S. 1974. *Himastla quissentensis*: induced in vitro encystment of cercaria and ultrastructure of the cyst. *Exper. Parasitol.* 35: 350—362.
- McCarthy A. M., Kanev I. 1990. *Pseudechinoparyphium echinatum* (Digenea: Echinostomatidae): experimental observations on cercarial specificity toward second intermediate hosts. *Parasitology.* 100: 423—428.

- Reddy A., Fried B. 1996. In vitro studies on intraspecific and interspecific chemical attraction in daughter rediae of *Echinostoma trivolvis* and *E. caproni*. Intern. Journ. Parasitol. 26: 1981—1085.
- Stein P. C., Bash P. F. 1977. Metacercarial cyst formation in vitro of *Echinostoma paraensei*. Journ. Parasitol. 63: 1031—1040.
- Stunkard H. W. 1957. The morphology and life history of the digenetic trematode *Microphallus similes*. Biol. Bull. 112: 254—266.
- Sukhdeo M. V. K., Mettrick D. F. 1987. Parasite behaviour: understanding platyhelminth responses. Advances in Parasitology. 26: 73—144.
- Szidat L. 1924. Beitrage zur Entwicklungsgeschichte der Holostomiden. Zool. Anz. 61 (11/12): 249—266.
- Timmermann W. 1936. Zur Biologie von *Cercaria C* (Szidat) und *Diplostomum volvens* (von Nordmann). Jnaug. — Diss. Munchen. 63 p.

THE INFLUENCE OF *ECHINOSTOMA CAPRONI* METACERCARIAE
(TREMATODA) ON THE SURVIVAL OF *BIOMPHALARIA* MOLLUSCS
(PULMONATA)

G. L. Altaev

Key words: Trematoda, metacercaria, *Echinostoma caproni*, survival, *Biomphalaria*, molluscs.

SAMMARY

The infrapopulation of the *Echinostoma caproni* partenites has a development of prolong character (Ataev et al, 2005). However, in laboratory conditions, *Biomphalaria* molluscs infested with this parasite die within 1—3 weeks after the beginning of cercariae emission. It has been suggested that autoinvasion of the mollusc host with the cercariae, which use it as second intermediate host, is the cause of this phenomenon. Studying the dynamics of metacercariae accumulation in the host (both infected and non-infected with the *Echinostoma caproni* rediae) and experiments where quantity of cercariae around molluscs reduced by different ways, confirmed this hypothesis. Evidently, pathogenicity of metacercariae for molluscs is lesser in nature, because the concentration of cercariae reduces to the values, which do not result in lethal effect: some part of cercariae dies, but another part uses other animals as a host (Haas, 2000).