

УДК 576.895.122 : 3

**СРАВНЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К ФАКТОРАМ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ
МОЛЛЮСКОВ *HYDROBIA ULVAE*,
ЗАРАЖЕННЫХ ПАРТЕНИТАМИ ТРЕМАТОД
И СВОБОДНЫХ ОТ ИНВАЗИИ**

© К. В. Галактионов, В. Я. Бергер, В. В. Прокофьев

Исследовано влияние заражения партенитами трематод (преимущественно видом *Microphalus claviformis*) на устойчивость беломорских моллюсков *Hydrobia ulvae* к опреснению, длительной осушке и экстремально высоким температурам. Обнаружено, что во всех вариантах экспериментов интенсивность гибели зараженных особей достоверно выше, чем свободных от инвазии. Предполагается, что отрицательное влияние паразитов на резистентность исследованных моллюсков связано прежде всего с нарушением способности зараженных гидробий изолироваться от экстремальных воздействий, закрывая крышечкой устье раковины. На это указывает выявленная в ходе поставленных экспериментов повышенная скорость потери солей у зараженных гидробий по сравнению с незараженными экземплярами. На основе анализа собственных и литературных данных высказывается гипотеза, согласно которой степень воздействия партенит трематод на устойчивость моллюсков-хозяев зависит от характера взаимоотношений, складывающихся между компонентами конкретных систем паразит—хозяин. При этом достаточно общей закономерностью является то, что виды трематод, имеющие в жизненном цикле фазу активной во внешней среде церкарии, оказывают большее отрицательное влияние на резистентность зараженных моллюсков, чем те виды, личинки которых развиваются до фазы метацеркарии непосредственно в партенитах.

Настоящее исследование продолжает серию работ, посвященных анализу воздействий, которые оказывают партениты трематод на устойчивость моллюсков-хозяев к стрессовым значениям абиотических факторов (Бергер, Кондратенков, 1974; Бергер, 1976, 1986; Галактионов, 1990, 1993; Бергер и др., 2001). Поводом для его выполнения послужило неопределенное положение, которое сложилось в паразитологической литературе. С одной стороны, результаты большинства экспериментальных исследований говорят о снижении резистентности зараженных моллюсков по отношению к таким факторам среды, как опреснение, воздействие экстремально высоких температур, аноксия и др. (Oliver, Brand, von, 1953; Vernberg, Vernberg, 1963; Бергер, Кондратенков, 1974; Бергер, 1976, 1986; Tallmark, Norrgren, 1976; Sousa, Gleason, 1989; Галактионов, 1990, 1993; Бергер и др., 2001). Однако есть данные, указывающие, что в некоторых случаях инвазия партенитами трематод не оказывает значимого отрицательного эффекта на адаптивные потенции моллюсков-хозяев (Riel, 1975; Sousa, Gleason, 1989; Галактионов, 1990, 1993; Бергер и др., 2001). Ранее нами (Бергер и др., 2001) было высказано предположение, что влияние паразитирования трематод на устойчивость зараженных моллюсков в значительной степени зависит от характера взаимоотношений, которые складываются в конкретной системе паразит—хозяин. Для проверки этой гипотезы были выбраны беломорские литоральные моллюски *Littorina saxatilis* и *Hydrobia ulvae*, которые служат первыми промежуточными хозяевами многим видам трематод, весьма различающимся по степени патогенного воздействия на своих хозяев (Горбушин, 2000). Результаты экспериментов с литори-

нами опубликованы ранее (Бергер и др., 2001). В данной работе помимо описания результатов новых опытов с гидробиями предпринята попытка обобщить накопленные к настоящему времени материалы по анализируемой проблеме.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в августе—сентябре 2001 г. на Беломорской биологической станции им. академика О. А. Скарлато Зоологического института РАН. Объектом исследования послужили моллюски *Hydrobia ulvae* (Pennant), собранные на острове Малый Жужмуй в Онежском заливе Белого моря во время рейса научно-исследовательского судна «Профессор Владимир Кузнецов». В ходе предыдущих экспедиций на литорали островов Большой и Малый Жужмуй были обнаружены популяции гидробий с высокой зараженностью партенидами трематод ряда видов. Это обстоятельство и определило выбор места сбора материала, поскольку высокая зараженность природной популяции являлась необходимым условием для реализации принятой в настоящей работе схемы экспериментальных исследований. Ее отличительной чертой явилось разделение подопытных животных, производившееся по результатам вскрытий после окончания экспериментов (см. ниже), на незараженных и зараженных партенидами трематод.

Обычно в исследованиях такого рода зараженные экземпляры определяются до начала опытов. Для этого моллюсков рассаживают по одному в микроаквариумы с водой, которую через определенный промежуток времени исследуют на наличие свободноподвижных личинок трематод — церкарий. Факт их обнаружения свидетельствует о заражении данного моллюска. Однако отсутствие выделившихся церкарий далеко не всегда означает, что данный моллюск свободен от трематодной инвазии (Curtis, Hubbard, 1990). Процесс выделения церкарий партенидами зависит от многих факторов и испытывает существенные циркадные и долговременные изменения, в ходе которых эмиссия личинок зараженным моллюском может полностью прекращаться на весьма длительное время (см. обзор: Галактионов, Добровольский, 1998). Кроме того, следует учитывать, что моллюск может быть заражен молодыми партенидами, в которых еще не сформировались личинки, способные к выходу во внешнюю среду. Таким образом, определение зараженности моллюсков только на основании данных об эмиссии церкарий нельзя признать вполне корректным.

Для экспериментальных исследований отбирались крупные моллюски с высотой раковины 6—7 мм, которые, как показали предварительные исследования, были поражены партенидами трематод с наибольшей экстенсивностью.

Для определения теплоустойчивости 100 гидробий помещались в воздушный термостат с температурой 37°. Количество живых и мертвых моллюсков определялось через 24, 36 и 48 ч после начала экспериментов. Определение устойчивости к обсыханию проводилось на 250—300 моллюсках, помещавшихся на воздухе при комнатной температуре (15—18°) в большие кюветы, дно которых выстилалось фильтровальной бумагой. Тестирование количества живых и мертвых животных производилось через 13 и 16 сут после начала опытов.

Для определения устойчивости гидробий к пресной воде 250—300 моллюсков помещали при комнатной температуре (15—18°) в аквариумы объемом 5—6 литров с водой из озера Кривое. Смена воды производилась раз в двое суток. Количество мертвых и живых моллюсков определяли через 10 и 13 сут после начала экспериментов.

Для различения живых и мертвых моллюсков порции подопытных животных в количестве 30—150 экз., взятые из экспериментальных условий, помещали на 24 ч в морскую воду контрольной (25—26 ‰) солености и комнатной температуры. Мертвыми считались моллюски, не реагировавшие на укол препаративной иглой в ногу. Мертвых и живых моллюсков вскрывали под стереомикроскопом МБС-10 и определяли наличие или отсутствие у них заражения партенидами трематод. В первом случае определяли еще и вид обнаруженных паразитов. На основании полученных данных

рассчитывали процент погибших особей отдельно для зараженных и незараженных гидробий. Достоверности различий в смертности зараженных и незараженных моллюсков во всех выполненных экспериментах оценивали по критерию Фишера (Лакин, 1973).

Скорость потери солей определяли электрокондуктометрически (Хлебович, Бергер, 1965). Для этого подопытные животные (10 зараженных и 10 незараженных), стандартизованные предварительно по весу (25—35 мг), помещались в сосуды с дистиллированной водой. Затем, по мере того как моллюски теряли соли, производили определение сопротивления воды. Расчет количества выделенных солей осуществляли с помощью предварительно построенной градуировочной кривой, характеризующей зависимость сопротивления раствора от содержания NaCl. Скорость потери солей выражали в мкг NaCl на грамм влажного веса в час. После опытов производили вскрытие для определения зараженности моллюсков.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У 60 % использовавшихся в опытах моллюсков обнаружено заражение партенитами и личинками 4 видов трематод (табл. 1). Доминирует вид *Microphallus claviformis* (сем. Microphallidae), которым было инвазировано около 90 % из числа зараженных особей. Во всех поставленных экспериментах смертность среди зараженных моллюсков была выше, чем среди незараженных (рис. 1—3). Различия эти значимы ($P < 0.01$) на обоих сроках в опытах по опреснению, на всех сроках экспериментов по теплоустойчивости ($P < 0.01$ на сроке 24 ч с начала нагревания и $P < 0.05$ на сроках 36 и 48 ч) и на сроке 13 сут ($P < 0.01$) при определении устойчивости гидробий к обсыханию при комнатной температуре. Скорость потери солей у зараженных моллюсков была почти в 2 раза выше, чем у незараженных гидробий (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты поставленных нами экспериментов однозначно свидетельствуют о снижении устойчивости зараженных гидробий ко всем исследованным неблагоприятным факторам среды. Это вполне согласуется с ранее полученными данными по влиянию зараженности партенитами трематод на резистентность беломорских *Hydrobia ulvae* к обсыханию и опреснению (Бергер, Кондратенков, 1974). Справедливой представляется точка зрения этих авторов, предположивших, что паразиты воздействуют угнетающе на какой-то достаточно универсальный механизм (механизмы?) адаптации моллюсков к различным факторам среды. На роль такового в первую очередь может претендовать способность Prosobranchia изолироваться от экстремальных воздействий при закрывании крышечкой устья раковины и переживать в таком состоянии в

Таблица 1

Зараженность использовавшихся в опытах моллюсков *Hydrobia ulvae* партенитами трематод

Table 1. Prevalence with trematode parthenites in mudsnails *Hydrobia ulvae* used in the experiments

| Вид трематод | Зараженность, % |
|---------------------------------|-----------------|
| <i>Microphallus claviformis</i> | 53 ± 2.08 |
| <i>Cryptocotyle concavum</i> | 3.5 ± 0.75 |
| <i>Himasthla</i> sp. | 2.1 ± 0.6 |
| <i>Paramonostomum alveatum</i> | 1.4 ± 0.49 |
| Всеми паразитами | 60 ± 2.04 |

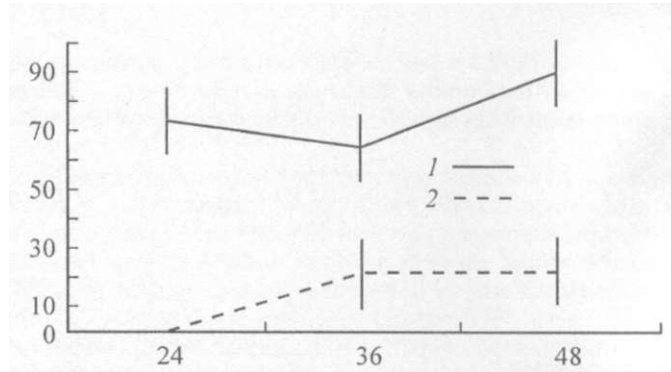


Рис. 1. Смертность зараженных и незараженных моллюсков *Hydrobia ulvae* при осушке при 37° (содержание в воздушном термостате).

По оси абсцисс — время от начала эксперимента (час); по оси ординат — количество погибших моллюсков (%); 1 — зараженные моллюски, 2 — незараженные моллюски.

Fig. 1. Mortality of infected (solid line) and uninfected (dotted line) *Hydrobia ulvae* by desiccation under temperature 37 °C.

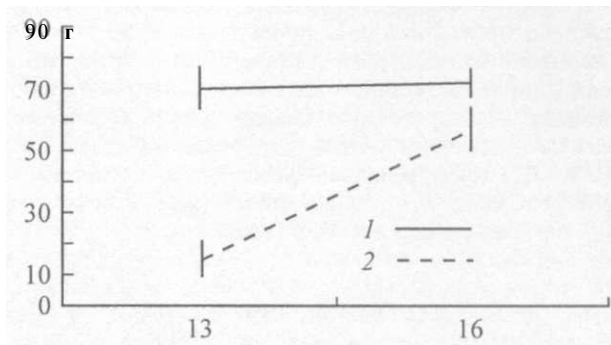


Рис. 2. Смертность зараженных и незараженных моллюсков *Hydrobia ulvae* при длительной осушке при комнатной температуре 15–18°.

По оси абсцисс — время от начала эксперимента (сутки); остальные обозначения такие же, как на рис. 1.

Fig. 2. Mortality of infected (solid line) and uninfected (dotted line) molluscs *Hydrobia ulvae* by prolonged desiccation under room temperature 15–18 °C.

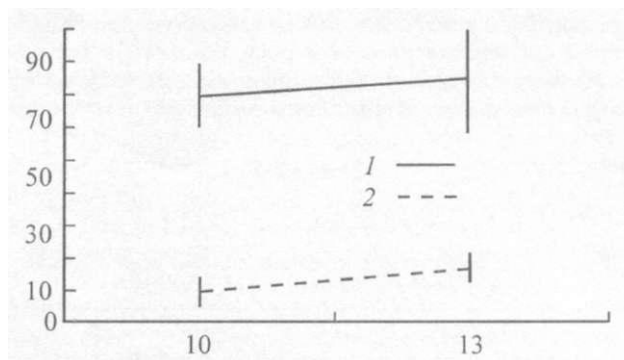


Рис. 3. Смертность зараженных и незараженных моллюсков *Hydrobia ulvae* при содержании в пресной воде.

Обозначения такие же, как на рис. 1 и 2.

Fig. 3. Mortality of infected (solid line) and uninfected (dotted line) molluscs *Hydrobia ulvae* kept in fresh water.

Таблица 2

Скорость потери солей ($M \pm m$) у моллюсков *Hydrobia ulvae*, зараженных *Microphallus claviformis* и свободных от инвазии трематодами

Table 2. Rate of salt loss (mkg NaCl/g/h, $M \pm m$) in infected with *Microphallus claviformis* and uninfected mudsnails *Hydrobia ulvae*

| Объект | Скорость потери солей, мкг NaCl/г · час | |
|-----------------------|---|------------|
| | 36 ч | 60 ч |
| Незараженные моллюски | 4.6 ± 0.03 | 3.7 ± 0.07 |
| Зараженные моллюски | 8.2 ± 0.15 | 6.4 ± 0.1 |

течение значительного времени. Будучи достаточно эффективной, эта реакция обеспечивает высокий уровень неспецифической резистентности многим видам переднежаберных моллюсков, среди которых *Hydrobia ulvae* занимает одно из первых мест (Бергер, 1986; Berger, Khagazova, 1997). В пользу подобного предположения может свидетельствовать выявленная в данной работе и ранее (Бергер, Кондратенков, 1974) повышенная скорость потери солей у зараженных гидробий по сравнению с незараженными.

Заметим, что во всех вариантах поставленных нами опытов разрыв между процентом погибших зараженных и незараженных гидробий особенно велик на первых сроках (рис. 1—3). При этом разница в проценте погибших зараженных моллюсков на первых и последних сроках весьма незначительна. Возможное объяснение наблюдаемого феномена может заключаться в некотором разбросе степени отрицательного воздействия паразитов на индивиды моллюсков-хозяев. У большинства особей заражение партенитами трематод существенно понижает эффективность герметизации мантийной полости, и они гибнут в первую очередь и достаточно быстро. Те же немногие из зараженных гидробий, у которых этот механизм затронут в меньшей степени, демонстрируют примерно ту же резистентность, что и незараженные экземпляры.

В этой связи следует отметить, что у беломорских моллюсков *Littorina saxatilis*, пораженных микрофаллидами группы «ругмаеус», скорость потери солей не отличалась от незараженных особей (Бергер и др., 2001). Иными словами, нарушения герметизации мантийной полости у моллюска-хозяина этого вида не происходит. Зараженные и незараженные литторины не различались по интенсивности гибели при воздействии таких факторов среды, как осушка, нагрев и замораживание, но инвазированные особи обнаруживали повышенную смертность по сравнению со свободными от инвазии микрофаллидами группы «ругмаеус» при длительном содержании в пресной воде (Сергиевский и др., 1986; Галактионов, 1990, 1993; Бергер и др., 2001). Очевидно, что в данном случае речь идет о дифференциальном воздействии паразитов на механизмы адаптации «второго эшелона», определяющие специфическую устойчивость моллюсков к таким различным факторам среды, как опреснение, воздействие экстремально высоких и низких температур и обсыхание (Бергер и др., 2001).

Столь различный характер воздействия партенит трематод на адаптационные потенции зараженных литторин и гидробий объясняется, на наш взгляд, особенностями взаимоотношений, складывающихся в каждой конкретной системе паразит—хозяин. Значительно упрощая ситуацию, паразито-хозяинные системы партениты трематод—моллюски можно условно разделить на две основные группы. К первой относятся те из них, в которых продуцируемая партенитами, будь то спороцисты или редии, личинка — церкария покидает моллюска и выходит во внешнюю среду. Таковы все исследовавшиеся нами и Бергером и Кондратенковым (1974) системы партениты трематод—гидробий. Во вторую группу попадают системы, формируемые трематодами, в жизненном цикле которых фаза активной во внешней среде церкарий отсутствует. Такова паразито-хозяинная система партениты микрофаллид группы «руг-

maeus»—литторины. У развивающихся в литторинах дочерних спороцист этих трематод формирования активной церкарии не происходит, а имеет место непрерывное развитие личинки до стадии метацеркарии, инвазионной для окончательного хозяина (морские птицы). Метацеркарии в спороцистах неподвижны и способны длительное время переживать в моллюске-хозяине (по-видимому, вплоть до его естественной смерти), практически не питаясь (Галактионов, 1993). Иной характер носят отношения с моллюском-хозяином у трематод с активной во внешней среде церкарией. Прежде всего их паразитирование связано с гораздо более интенсивным потреблением ресурсов хозяина. Чтобы убедиться в этом, достаточно сравнить данные по продуктивности партенит. Так, в одном зараженном моллюске *Littorina* spp., в зависимости от его размера, может содержаться 1000—7000 метацеркарий микрофаллид группы «ругмаеус» (Галактионов, 1993). В то же время только число ежесуточно покидающих инвазированных гидробий церкарий *Microphallus clavifirmis*, *Maritrema subdolum* и *Cryptocotyle concavum* может достигать 1000 экз. (наши данные). Кроме того, активно перемещающиеся внутри моллюска-хозяина церкарии могут провоцировать различные патологии органов и тканей, способствовать проникновению инфекций (Горбушин, 2000). В результате виды трематод, обладающие фазой активной во внешней среде церкарий, по-видимому, оказываются более патогенными для моллюсков-хозяев, чем те, у которых созревание метацеркарии, как у микрофаллид группы «ругмаеус», осуществляется внутри партенит (Jokela e.a., 1999; Горбушин, 2000; Бергер и др., 2001). Одним из проявлений этого патогенеза, скорее всего, и является понижение эффективности механизмов герметизации мантийной полости у зараженных гидробий.

Обращает на себя внимание то, что во всех исследованиях, в которых выявлялось отрицательное воздействие трематод на резистентность моллюсков-хозяев, в качестве моделей использовались паразито-хозяинные системы первой группы, то есть с выходящей во внешнюю среду церкарией (Oliver, Brand, von, 1953; Vernberg, Vernberg, 1963; Riel, 1975; Tallmark, Norrgren, 1976; Sousa, Gleason, 1989). Учитывая сказанное в предыдущем абзаце о характере патогенеза, подобный результат выглядит вполне закономерно. В то же время следует отметить, что приводимые рядом упомянутых выше авторов (Vernberg, Vernberg, 1963; Riel, 1975; Sousa, Gleason, 1989) результаты не всегда оказываются статистически достоверными (Галактионов, 1990; Бергер и др., 2001). В литературе описаны и случаи отсутствия повышенной смертности моллюсков, даже при заражении трематодами с выделяющимися во внешнюю среду церкариями. Все это, на наш взгляд, служит указанием на необходимость дифференциального анализа каждой исследуемой системы партениты данного вида—моллюск-хозяин.

Достаточно очевидным представляется тот факт, что внутри двух выделенных типов систем партениты трематод—моллюски характер патогенного воздействия паразитов варьирует в весьма широких пределах в зависимости от особенностей взаимоотношений, складывающихся между компонентами конкретной системы паразит—хозяин. Так, в опытах Бергера и Кондратенкова (1974) скорость потери солей гидробиями, зараженными *Maritrema subdolum*, превышала значение аналогичного показателя для незараженных особей в 1.5—2 раза, а инвазированными *Cryptocotyle concavum* — в 2—3 раза. Полученные в настоящей работе данные (см. табл. 2) сравнимы с первыми из вышеприведенных, что не вызывает удивления. Виды *M. subdolum* и *Microphallus clavifirmis* принадлежат к одному семейству (Microphallidae), характер поражения их спороцистами моллюсков одинаков, размеры спороцист и церкарий, а также суммарная продуктивность спороцист различаются незначительно. Партениты *C. concavum* (сем. Heterophyidae) представлены редиями, которые вследствие своей подвижности могут причинять больше вреда окружающим тканям хозяина, чем неподвижные дочерние спороцисты микрофаллид. Кроме того, церкарии *C. concavum* по своим размерам в 2—2.5 раза превышают личинок *M. subdolum* и *M. clavifirmis*, а суточная эмиссия церкарий *C. concavum* из зараженных гидробий сравнима со значениями, характерными для микрофаллид (наши данные). Поэтому вполне обоснованным кажется предположение, что патогенное воздействие *C. concavum* на гидро-

бий выше, чем микрофаллид. Это и определяет разницу в эффективности герметизации мантийной полости у моллюсков, инвазированных *S. concavum* и микрофаллидами.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 99-04-49788, 01-04-49646).

Список литературы

- Бергер В. Я. О воздействии паразитов на систему адаптаций к солености моллюска *Hydrobia ulvae* // Паразитология. 1976. Т. 10, вып. 4. С. 333—337.
- Бергер В. Я. Адаптации морских моллюсков к изменениям солености среды. Л.: Наука, 1986. 216 с.
- Бергер В.Я., Кондратенков А.П. Влияние зараженности *Hydrobia ulvae* личинками трематод на устойчивость ее к обсыханию и опреснению // Паразитология. 1974. Т. 8, вып. 6. С. 563—564.
- Бергер В.Я., Галактионов К.В., Прокофьев В.В. Воздействие паразитов на адаптации хозяина к абиотическим факторам среды: паразито-хозяйинная система партениты трематод—моллюски // Паразитология. 2001. Т. 35, вып. 3. С. 192—200.
- Галактионов К. В. Влияние паразитирования партенит микрофаллидных трематод на резистентность литоральных моллюсков *Littorina saxatilis* (Oliv) к стрессовым воздействиям. Морфология и экология паразитов морских животных. Апатиты: Изд-во КНЦ АН СССР, 1990. С. 12—33.
- Галактионов К. В. Жизненные циклы трематод как компоненты экосистем. Апатиты: Изд-во КНЦ АН СССР, 1993. 190 с.
- Галактионов К. В., Добровольский А. А. Происхождение и эволюция жизненных циклов трематод. СПб.: Наука, 1998. 404 с.
- Горбушин А.М. Сравнительный морфофункциональный анализ взаимоотношений в системе моллюск—трематода // Паразитология. 2000. Т. 34, вып. 6. С. 502—511.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1973. 344 с.
- Сергиевский С.О., Гранович А.И., Михайлова Н. А. Влияние трематодной инвазии на выживаемость моллюсков *Littorina obtusata* (L.) и *L. saxatilis* (Oliv) в условиях экстремально низкой солености // Паразитология. 1986. Т. 20, № 3. С. 202—207.
- Хлебович В. В., Бергер В. Я. Опыт электрокондуктометрического исследования водно-солевого обмена некоторых гидробионтов // Гидробиол. журн. 1965. Т. 1, № 5. С. 57—61.
- Berger V.Ja., Kharazova A.D. Mechanisms of salinity adaptations in marine molluscs // *Hydrobiologia*. 1997. Vol. 355. P. 115—126.
- Curtis L.A., Hubbard K. M. Trematode infections in a gastropod host misrepresented by observing shed cercariae // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 1990. Vol. 143. P. 131—137.
- Jokela J., Lively C.M., Taskinen J., Peers A. D. Effect of starvation on parasite-induced mortality in a freshwater snail *Potamopyrgus antipodarum* // *Oecologia*. 1999. Vol. 119. P. 320—325.
- Oliver L.T., Brand M., von. The influence of lack of oxygen on *Schistosoma mansoni* cercariae and on infected *Austrolorbis glabratus* // *Exp. Parasitol.* 1953. Vol. 12. P. 339—366.
- Riel A. Effect of trematodes on survival of *Nassarius obsoletus* (Say) // *Proc. Malacol. Soc. London*. 1975. Vol. 41, N 6. P. 527—528.
- Sousa W. P., Gleason M. Does parasitic infection compromise host survival under extreme environmental conditions? The case for *Cerithidea californica* (Gastropoda: Prosobranchia) // *Oecologia*. 1989. Vol. 80. P. 456—464.
- Tallmark Bo, Norrgren G. The influence of parasitic trematodes on the ecology of *Nassarius reticulatus* (L.) in Gullmar Fjord (Sweden) // *Zoon*. 1976. Vol. 4, N 2. P. 149—154.
- Vernberg W. B., Vernberg F. J. Influence of parasitism on thermal resistance of the mud-flat snail *Nassa obsoleta* Say // *Exper. Parasitol.* 1963. Vol. 14, N 3. P. 330—332.

COMPARISON OF RESISTANCE TO ENVIRONMENTAL FACTORS
OF THE MOLLUSCS *HYDROBIA ULVAE*
INFECTED WITH TREMATODE PARTHENITES AND FREE FROM INFECTION

K.V. Galaktionov, V.Ya. Berger, V. V. Prokofiev

Key words: *Hydrobia ulvae*, resistance, environmental factor, desiccation, fresh water, temperature, trematode infection, parthenites.

S U M M A R Y

The influence of trematode infection, mainly with *Microphallus claviformis*, onto the resistance of mudsnails *Hydrobia ulvae* to fresh water, desiccation and extremely high temperature has been investigated. It was found out in all variants of experiments that the intensity of mortality in infected individuals is reliably higher than in individuals free of infection. It is suggested, that the negative influence of parasites on the resistance of hosts is related to the disturbance of molluscs' capability to isolate themselves from extremal condition by shutting up the shell with operculum. It is proved by the high rate of salt loss in the infected molluscs in a comparison to non-infected individuals. Our hypothesis based on results obtained and reference data suggests that the rate of trematode parthenites influence onto the resistance of molluscs depends upon the character of interrelationships in host-parasite systems. Normally, the trematode species having the active cercaria stage in the life cycle show more negative impact onto the resistance of infected molluscs, than those species, larval stages of which develop to metacercaria inside the parthenites.