

УДК 576.895.122

**ДЫХАНИЕ И ДВИГАТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЦЕРКАРИЙ
ТРЕХ ВИДОВ ТРЕМАТОД ИЗ ЛИТОРАЛЬНЫХ МОЛЛЮСКОВ
LITTORINA LITTOREA L. (GASTROPODA) БЕЛОГО МОРЯ**

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

При помощи модифицированного метода Винклера исследована возрастная динамика скорости дыхания у церкарий *Himasthla elongata*, *Cryptocotyle lingua* и *Cercaria parvicaudata* (*Renicola* sp.) при постоянных значениях температуры и солености воды. Выявлена прямая зависимость уровня потребления кислорода от размера личинок. Показано, что далеко отстоящие друг от друга в филогенетическом отношении, но имеющие сходные размеры животные обладают сходными величинами дыхательного метаболизма. Наиболее высокий уровень энергетического обмена зарегистрирован в первые часы жизни церкарий, когда их двигательная активность максимальна. Последующее снижение интенсивности дыхания проходит у личинок исследованных видов неодинаково. Крупные, долгоживущие церкарии *H. elongata* после относительно непродолжительного периода активного плавания переходят к ползанию по дну. Скорость потребления ими кислорода к этому времени стабилизируется на уровне примерно в два раза ниже начального и остается почти неизменной вплоть до гибели личинок. Более мелкие церкарии *Renicola* sp. весь краткий период своего существования активно плавают в толще воды, и уровень их энергетического метаболизма остается более или менее стабильным. Он резко понижается после опускания личинок на дно, вслед за чем следует их скорая гибель. Чередование активной и пассивной фаз в движении церкарий *C. lingua* позволяет им длительное время сохранять постоянную интенсивность дыхания, которая резко падает при оседании личинок на дно. К этому времени они, по-видимому, утрачивают инвазионную способность.

Свободно плавающая личинка гермафродитного поколения трематод — церкария после выхода из моллюска-хозяина во внешнюю среду не питается и живет за счет накопленного запаса питательных веществ, главным образом гликогена. Продолжительность жизни церкарии невелика (от нескольких часов до 5—10 дней) и определяется как количеством имеющегося у нее гликогена, так и скоростью его потребления. Последняя же прямо зависит от двигательной активности личинок (Гинецинская, Добровольский, 1962, 1963; Smyth, Halton, 1983). Как правило, мелкие, активно плавающие церкарии живут меньше, чем крупные и малоподвижные. В целом с возрастом количество гликогена снижается, а двигательная активность личинок ослабевает. Поэтому можно предположить, что и интенсивность дыхания церкарий со временем также понижается. Экспериментальных доказательств этому положению обнаружить в литературе нам не удалось. Работы по изучению дыхания трематод немногочисленны и проводились преимущественно в 50—70-х гг. (см. обзоры: Vernberg, 1968; Smyth, Halton, 1983) на маритах и паренитах (спороцистах и редиях). В единичных исследованиях, выполненных на церкариях, использовались личинки, только что выделившиеся из моллюска-хозяина (Vernberg, Hunter, 1959; Vernberg, 1961). Была выявлена прямая зависимость скорости потребления кислорода от роста

температуры воды, в которой содержались церкарии. В то же время возможное влияние поведения церкарий на уровень энергетического обмена осталось вне поля зрения исследователей.

Предлагаемая работа представляет собой попытку заполнить существующий пробел. Ее целью стало определение связи интенсивности энергетического метаболизма церкарий, тестируемого по скорости потребления кислорода, с особенностями их двигательной активности в период свободной жизни в воде.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в июне—сентябре 1999—2000 гг. на Беломорской биологической станции им. академика О. А. Скарлато Зоологического института РАН.

Моллюсков *Littorina littorea* (L.) собирали во время отлива с нижнего горизонта литорали и верхней сублиторали губы Чупа Кандалакшского залива Белого моря. Собранных литторин сразу рассаживали поодиночке в сосуды с морской водой (соленостью 24—25 ‰) объемом 100 мл и помещали на открытой для солнца площадке. Сочетание высокой освещенности (до 160 000 Лк) и температуры (до 30 °) воды стимулировало массовый выход личинок трематод из хозяина в воду. Через 3—4 ч воду в сосудах просматривали под стереомикроскопом МБС-9 и по выделившимся церкариям определяли инвазированных моллюсков и вид заражения. Зараженных литторин отсаживали в садки, которые содержались на литорали вблизи биостанции. Этих моллюсков в дальнейшем использовали как постоянный источник церкарий для экспериментов. Перед выполнением последних литторин, зараженных определенным видом партенит, в количестве 10—20 экз. отсаживали в сосуд с морской водой объемом 500 мл и выставляли на освещенной солнцем площадке. Через 1—2 ч моллюсков удаляли, а выделившихся личинок видов *Himasthla elongata* (Mehlis, 1831), *Cryptocotyle lingua* (Creplin, 1825) и *Cercaria parvicaudata* Stunkard, Shaw, 1931 (*Renicola* sp.) использовали в экспериментах.

Наблюдения за динамикой скорости потребления кислорода церкариями проводились в лаборатории при стабильной температуре (20 ± 1 °) и солености (24 ± 25 ‰) воды. Скорость потребления кислорода церкариями изучалась с помощью заранее откалиброванных, герметично замкнутых респирометров объемом 65 ± 3 мл. Содержание кислорода в воде до (3 холостых респирометра) и после пребывания в них личинок трематод (5—8 опытных респирометров) определялось по методу Винклера (Карпевич, 1960). Экспозиция и число подопытных церкарий подбирались в серии предварительных экспериментов таким образом, чтобы количество потребленного кислорода не превышало 25 % от его исходного уровня. Скорость потребления кислорода (V), выраженная в микрограммах кислорода на одну церкарию в час ($\text{мкг O}_2/\text{церкария}/\text{ч}$), рассчитывалась по формуле

$$V = \frac{C_x - C_0}{NT}$$

где C_x — содержание кислорода в воде холостых респирометров, в мг; C_0 — содержание кислорода в воде опытных респирометров, в мг; N — количество церкарий в респирометре, в шт.; T — экспозиция, в ч.

Для подсчета количества личинок, помещаемых в респирометр, была отработана специальная методика. Из хорошо перемешанной взвеси церкарий дозатором отбирали 1 мл воды. Под стереомикроскопом МБС-9 подсчитывали число личинок в 1 мл. Так повторяли 5 раз, затем вычисляли среднее количество церкарий в 1 мл воды по результатам 5 подсчетов. Таким образом производили «калибровку» взвеси. Для каждого нового эксперимента «калибровку» производили заново. Объем «калиброванной» жидкости с подопытными личинками (и соответственно их численность), помещаемой в респирометр, варьировал от 1 до 7—8 мл (500—5000 экз.) в зависи-

мости от размеров церкарий, их концентрации, задач и условий опыта. Как показали специально проведенные подсчеты, средняя квадратическая ошибка измерений численности церкарий не превышала 5 %.

Для оценки связи динамики потребления кислорода с двигательной активностью исследованных церкарий были проведены наблюдения за характером движения личинок под стереомикроскопом МБС-9. Для этого только что вышедших из моллюска церкарий в количестве 5—10 экз. помещали в чашку Петри с морской водой при температуре $20 \pm 1^\circ$ и отмечали изменения их двигательной активности (линейная скорость плавания и длительность активных и пассивных фаз движения) в различные часы жизни, вплоть до гибели. При этом линейные перемещения личинок оценивали при помощи окуляр-микрометра, а длительность фаз — секундомера. Число наблюдений для церкарий каждого вида и возраста составило около 100. Приведенные в статье результаты — средние для каждого вида наблюдений. Выживаемость церкарий (LT_{100}) определялась по времени от момента их выделения из моллюсков до гибели последних из 50—70 особей, содержащихся в контрольных условиях. О гибели судили по наступлению полной неподвижности церкарий, контролировавшейся визуально под стереомикроскопом. Полученные данные обрабатывались статистически по общепринятой методике (Ашмарин и др., 1975). Рассчитывали среднеарифметическое (M) из 5—8 измерений и его среднюю квадратическую ошибку (m). На рисунках приведены 95%-ные доверительные интервалы.

РЕЗУЛЬТАТЫ

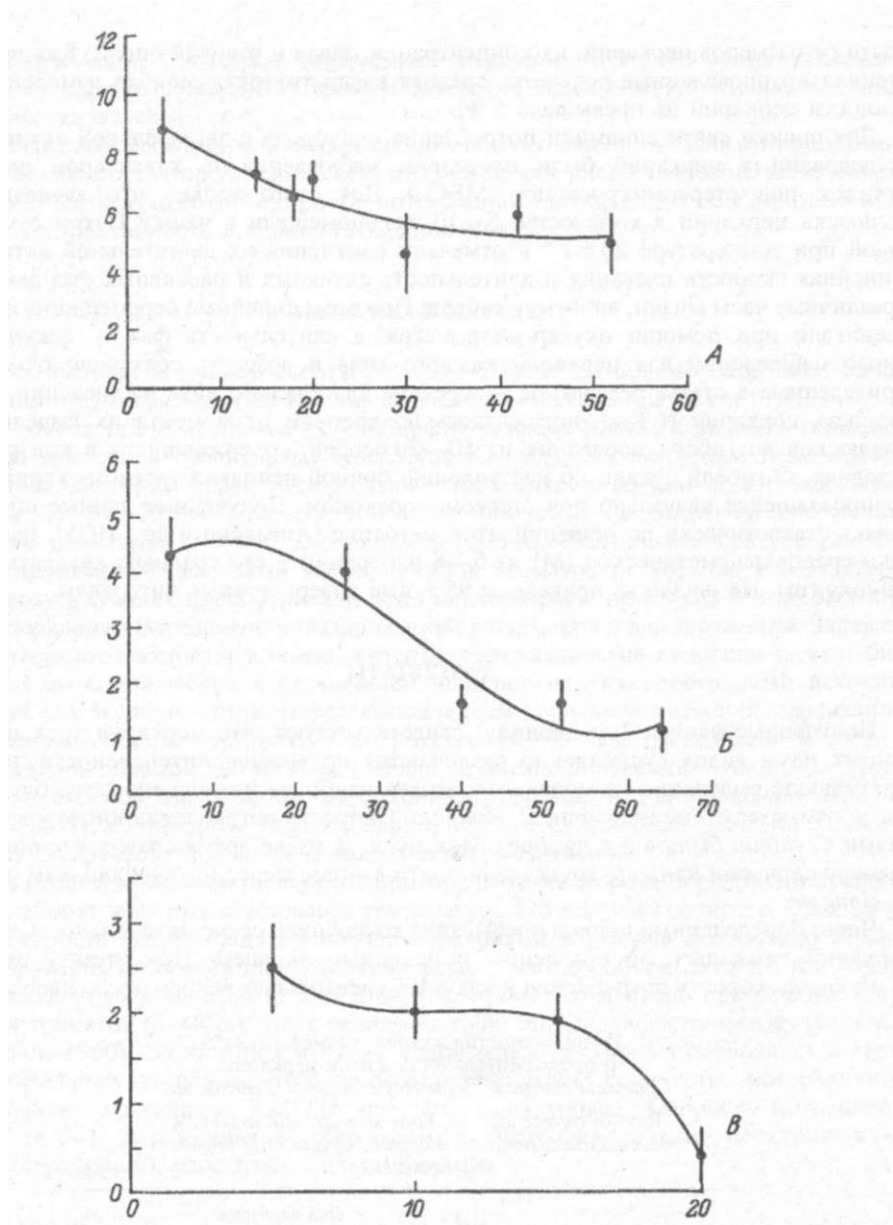
Полученные данные (см. таблицу) свидетельствуют, что церкарии трех исследованных нами видов существенно различаются по уровню интенсивности дыхания. Сразу после выделения из моллюсков-хозяев наиболее интенсивно потребляли кислород самые крупные церкарии *H. elongata*. Скорость потребления кислорода церкариями *C. lingua* была в 2 с лишним раза ниже. В то же время сравнимые с ними по размеру церкарии *Renicola* sp. дышали почти в 4 раза менее интенсивно, чем личинки *H. elongata*.

Через определенный период пребывания во внешней среде интенсивность дыхания церкарий снижалась по сравнению с исходным уровнем. При этом у церкарий *H. elongata* скорость потребления кислорода уменьшалась вскоре после начала опыта

Интенсивность дыхания, размеры тела*
и продолжительность жизни церкарий
Himastha elongata, *Cryptocotyle lingua* и *Renicola* sp.
Rate of oxygen uptake, body size and life longevity
in cercariae *Himastha elongata*, *Cryptocotyle lingua*,
and *Renicola* sp.

| Показатель | Вид церкарии | | |
|--|--------------------|------------------|---------------------|
| | <i>H. elongata</i> | <i>C. lingua</i> | <i>Renicola</i> sp. |
| Длина тела, мкм | 380—550 | 180—215 | 240—290 |
| Ширина тела, мкм | 135—155 | 70—90 | 80—100 |
| Длина хвоста, мкм | 230—395 | 270—420 | 170—190 |
| Ширина хвоста, мкм | 65—80 | 33—40 | 20—25 |
| LT_{100} , ч | 56 ± 7 | 82 ± 9 | 29 ± 3 |
| Начальная скорость потребления O_2 , мкг/церкария/ч ($\times 10^{-3}$) ($M \pm m$) | 8.8 ± 0.4 | 4.3 ± 0.3 | 2.5 ± 0.2 |

* По: Подлипаев (1979).



Возрастная динамика интенсивности дыхания церкарий.

A — *Himasthla elongata*; *Б* — *Cryptocotyle lingua*; *В* — *Rencicola roscovita*; по оси абсцисс — время с начала опыта (час); по оси ординат — скорость потребления O₂ (мкг O₂/церкария/ч × 10).

Age dynamics in oxygen consumption of cercariae of three species.

(см. рисунок, *A*). У личинок *C. lingua* и *Rencicola* sp. подобное снижение имело место только спустя значительное время после выхода в воду: после 26 и 15 ч соответственно (см. рисунок, *Б*, *В*).

Наблюдения за двигательной активностью церкарий показали, что личинки *H. elongata* в первые 3–4 ч жизни во внешней среде активно плавают со скоростью около 1–2 мм/с. Через неравные промежутки времени (30–180 с) отдельные экземпляры могут прекращать интенсивно работать хвостом на 0.5–1 с, однако тело

личинки при этом активно сокращаются. Таким образом, отчетливо выраженной фазы парения в толще воды у церкарий *H. elongata* не выявляется. Через 3–4 ч большая часть личинок плавает у дна, при этом они изредка перестают работать хвостом и начинают ползать по дну (в течение 10–180 с), а затем вновь отрываются от стенки сосуда и переходят к активному плаванию. Через 8–12 ч подавляющее большинство церкарий ползает по дну, лишь на короткое время (10–30 с) переходя к плаванию.

Церкарии *S. lingua* после выхода из моллюска-хозяина энергично плавают. Процесс их движения отчетливо разделяется на две чередующиеся фазы: активную и пассивную. В ходе первой личинка активно работает хвостом, что обеспечивает ее поступательное движение вперед. Во время второй фазы она замирает и в таком состоянии парит в воде, медленно опускаясь вниз. Затем весь процесс повторяется. В течение первых 1–2 ч после выхода из моллюска длительность активной фазы равна 10–15 с, пассивной — 2–3 с. Через 3–4 ч эти показатели составляют соответственно 5–10 и 5–10 с, а спустя 6–8 ч — 3–5 и 10–15 с. Через 10–12 ч период активного плавания составляет всего 1–2 с, а парения 20–30 с и более. Средняя скорость движения личинок вперед на протяжении активного периода составляет, по нашим наблюдениям, 4–6 мм/с, а скорость оседания в пассивном — 0.5–1 мм/с. Через 20–30 ч большинство церкарий практически неподвижно лежат на дне сосуда. С интервалом в 120–240 с они переходят к активному плаванию в течение 1–3 с, а затем вновь замирают и оседают на дно.

Церкарии *Renicola* sp. активно плавают на протяжении всей жизни. Отмечается лишь постепенное снижение скорости движения (от 0.5–1 до 0.2–0.5 мм/с) в течение первых 6–8 ч. Через 12–18 ч практически все церкарии располагаются у дна, но при этом они продолжают плавать, изредка переходя к ползанию.

ОБСУЖДЕНИЕ

Скорость потребления кислорода организмами, в том числе и водными, является функцией массы их тела, а соответственно и объема (Hemmingsen, 1960; Алимов, 1989, 2000, и др.). К сожалению, нам не удалось ни определить, ни точно рассчитать объем тела церкарий. Если представить их в виде двух цилиндров (тело и хвост), то по столь грубым прикидкам получается, что самые крупные из исследованных нами видов церкарий *H. elongata* (см. таблицу) по объему превосходили церкарий двух остальных видов в 3–4 раза. Как показывают полученные данные (см. таблицу), соотношение уровней дыхательного обмена у исследованных видов довольно близко к этим величинам. Очевидно, что большей сходимости величин трудно ожидать, учитывая весьма приблизительный метод расчета объема личинок.

В работе Вернберг (Vernberg, 1961) приводятся данные о скорости потребления кислорода церкариями *Himasthla quissetensis* и *Zoogonus rubellus*, составлявшие при 18° соответственно 0.54 и 1.45×10^{-2} мкл O₂/мкгN в час. В этой же работе указывается и содержание азота в организме церкарий. Оно составляло соответственно 0.35 и 0.084 мкг. Путем несложных пересчетов можно определить, что скорость потребления кислорода церкариями этих двух видов была равна соответственно 2.70×10^{-3} и 1.74×10^{-3} мкг O₂ на церкарию в час, что, принимая во внимание разницу в использованных методиках, хорошо совпадает с нашими данными.

Определение уровня потребления кислорода дочерними спороцистами *Microphallus pygmaeus*, *Cercaria stunkardi* и *C. linearis* дело величины порядка 3.2–14 $\times 10^{-3}$ мкл O₂ на одну особь в ч (Richard e.a., 1972; James, Richard, 1972; Popiel, James, 1978). Если в соответствии с указаниями Алекина (1959) ввести поправочный коэффициент 1.429 и пересчитать эти величины в мг O₂ на одну особь в ч ($\times 10^{-3}$), то они составят 4.6–20. Нижние значения этого диапазона соответствуют полученным нами для церкарий, что вполне объяснимо, учитывая более крупные размеры дочерних спороцист.

Мы попытались сопоставить данные по интенсивности дыхания личинок трематод с результатами определений скорости потребления кислорода у других водных животных, близких по размерам церкариям. Значения этого показателя у инфузорий *Paramecium caudatum* (180—280 мкм длины) и *Spirostomum ambiguum* (до 1.5 мм в длину) составляли соответственно 3 и 12.7×10^{-3} мкл O_2 на одну особь в час (Хлебович, 1974, 1979), т.е. 4.3×10^{-3} при перерасчете в мг O_2 на одну особь в час. Любопытно отметить, что хорошее совпадение по интенсивности протекания метаболических процессов демонстрируют близкие по размерам, но такие далеко отстоящие друг от друга по уровню организации организмы, как инфузории (одноклеточные), с одной стороны, и спороцисты и церкарии трематод (многоклеточные, тканевые) — с другой.

Сопоставление изменений скорости потребления кислорода и двигательной активности показывает, что максимальный уровень энергетического обмена приходится на начальный этап, характеризующийся наибольшей двигательной активностью церкарий. Последующее снижение интенсивности дыхания связано с расходом имеющегося у личинок запаса гликогена, что визуально проявляется в падении активности церкарий. При этом личинки всех трех исследованных нами видов используют различную стратегию.

Церкарии *H. elongata* после достаточно короткого периода активной дисперсии в пространстве, в течение которого они активно плавают, переходят к более пассивному способу существования, ползая по дну и всплывая лишь на короткое время (см. выше). Такой характер поведения, по-видимому, позволяет экономно расходовать энергетические ресурсы и увеличивает продолжительность жизни личинок. Фактически после 20 ч жизни во внешней среде скорость потребления кислорода церкариями стабилизируется на уровне примерно в два раза ниже начального и остается почти неизменной вплоть до их гибели (см. рисунок, А).

По-иному ведут себя церкарии *Renicola* sp. Они активно плавают в толще воды вплоть до практически полного исчерпания энергетических ресурсов, наступающего примерно через 15 ч после выхода из моллюска-хозяина. В это время у личинок наблюдается резкое снижение скорости потребления кислорода (см. рисунок, В), они опускаются на дно и вскоре погибают.

Перемещение церкарий *C. lingua* в толще воды резко отличается от локомоции личинок рассмотренных выше видов благодаря наличию активной и пассивной фаз. Это позволяет церкариям более экономно расходовать запасные питательные вещества, что способствует увеличению продолжительности их жизни. Несмотря на свои мелкие размеры и даже несколько более высокую скорость потребления кислорода, чем у более крупных личинок *Renicola* sp., церкарии *C. lingua* обладают наибольшей продолжительностью жизни (см. таблицу). Следует, однако, отметить, что период сохранения церкариями *C. lingua* способности заражать второго промежуточного хозяина (рыбы), по-видимому, ограничен 20—30 ч, в течение которых личинки находятся в толще воды. В это время для них характерна стабильная скорость потребления кислорода, резкое падение которой после 26 ч (см. рисунок, Б) совпадает по времени с оседанием церкарий на дно.

Полученные нами материалы позволяют заключить, что динамика энергетического обмена церкарий обусловлена в основном соответствующими изменениями их двигательной активности. По-видимому, скорость потребления кислорода сразу после выхода церкарий из моллюсков соответствует суммарной величине основного обмена и метаболизма, связанного с локомоторной активностью. Поскольку двигательная активность церкарий на последних стадиях опыта была близка к нулю, то зарегистрированные при этом величины интенсивности дыхания были, по-видимому, близки к уровню основного обмена этих животных. При этом не исключены и возможные снижения уровня основного обмена по мере старения церкарий.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 99-04-49788) и ИНТАС (проект 10224).

Список литературы

- Алекин О. А. Методы изучения физических свойств и химического состава воды // Жизнь пресных вод СССР. Т. 4. Ч. 2. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1959. С. 213—300.
- Алимов А. Ф. Введение в продукционную гидробиологию. Л.: Гидрометеиздат, 1989. 152 с.
- Алимов А. Ф. Элементы теории функционирования водных экосистем. СПб.: Наука, 2000. 147 с.
- Ашмарин И. П., Васильев Н. Н., Амбросов В. А. Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов. Л.: Изд-во ЛСУ, 1975. 78 с.
- Гинецинская Т. А., Добровольский А. А. Гликоген и жир на разных фазах жизненного цикла сосальщиков. Ч. I. Морфология распределения гликогена и жира // Вест. ЛГУ. 1962. № 9. С. 67—81.
- Гинецинская Т. А., Добровольский А. А. Гликоген и жир на разных фазах жизненного цикла сосальщиков. Ч. II. Биологическое значение гликогена и жира // Вест. ЛГУ. 1963. № 3. С. 23—33.
- Карпевич А. Ф. Выносливость рыб и беспозвоночных при изменении солености среды и методы ее определения // Тр. Карадаг. биол. ст. 1960. Т. 16. С. 86—131.
- Подлипаев С. А. Партениты и личинки трематод литоральных моллюсков Восточного Мурмана // Экологич. и эксперимент. паразитол. Вып. 2. Л.: Изд-во ЛГУ, 1979. С. 47—101.
- Хлебович Т. В. Интенсивность дыхания у инфузорий разного размера // Цитология. 1974. Т. 10, вып. 1. С. 103—105.
- Хлебович Т. В. Скорость потребления кислорода инфузориями // Общие основы изучения водных экосистем. Л.: Наука, 1979. С. 25—31.
- Hemmingsen A. M. The relation of standard (basal) energy metabolism to total fresh weight of living organisms // Rep. Stenool. memor. Hospital., Copenh. 1960. Vol. 4. P. 7—58.
- James B. L., Richard R. J. The relationship between oxygen uptake, reduced weight, length and number of contained metacercariae in sporocysts of *Microphallus pygmaeus* (Levinsen, 1881) (Trematoda: Microphallidae) // J. Helminthol. 1972. Vol. 46, N 1. P. 27—33.
- Popiel I., James B. L. Variations in the ultrastructure and oxygen consumption of the daughter sporocysts of *Cercaria stunkardi* Palombi, 1934 and *Cercaria linearis* Stunkard, 1932 (Digenea: Opocoelidae) in chemically defined media // Z. Parasitenk. 1978. Bd 56. S. 251—265.
- Richard R. J., Pascoe D., James B. L. Variations in the metabolism of the daughter sporocysts of *Microphallus pygmaeus* in a chemically defined medium // J. Helminthol. 1972. Vol. 46. P. 107—116.
- Smyth J. D., Halton D. W. The physiology of trematodes. Cambridge: Cambridge University Press, 1983. 446 p.
- Vernberg W. B. Studies on oxygen consumption in digenetic trematodes. VI. The influence of temperature on larval trematodes // Exper. Parasitol. 1961. Vol. 11. P. 270—275.
- Vernberg W. B. Chapter 4. Platyhelminthes: Respiratory Metabolism // Chemical Zoology. Vol. II. N. Y.; L.: Academic Press, 1968. P. 359—393.
- Vernberg W. B., Hunter W. S. Studies on oxygen consumption in digenetic trematodes. III. The relationship of body nitrogen to oxygen uptake // Exper. Parasitol. 1959. Vol. 8. P. 76—82.

ЗИН РАН, Санкт-Петербург, 199034;

Поступила 12.01.2001

Псковский педагогический институт им. С. М. Кирова, Псков, 180760

RESPIRATION AND MOVEMENT OF CERCARIAE OF THREE TREMATODE SPECIES FROM THE WHITE SEA INTERTIDAL MOLLUSC LITTORINA LITTOREA L. (GASTROPODA)

V. V. Prokofiev, V. Ja. Berger, K. V. Galaktionov

Key words: oxygen consumption, trematode, cercaria, mollusc, cercaria behaviour, adaptation, *Himasthla elongata*, *Cryptocotyle lingua*, *Renicola*.

SUMMARY

The age dynamics in oxygen consumption of the cercariae *Himasthla elongata*, *Cryptocotyle lingua* and *Cercaria parvicaudata* (*Renicola* sp.) was studied using modified Winkler's method. It was detected that under stable temperature and water salinity conditions the rate of oxygen uptake depends directly on cercariae size. The highest intensity of energetic metabolism was recorded in

the first few hours of cercariae life when their movement activity was maximal. The following reduction of oxygen consumption passed unequally in three cercariae species studied. Large, long-lived *H. elongata* cercariae after relatively short period of active swimming turn to crawling on the bottom. The rate of oxygen uptake in such cercariae was two times less than in free-swimming ones and remained approximately invariable up to the cercariae death. The smaller sized, short-lived *Renicola* sp. cercariae swim actively in the water and during this time the level of their energetic metabolism remains more or less stable. It decreased drastically after cercariae sinking to the bottom, after that they perished very soon. Also relatively small *C. lingua* cercariae alternate the active and passive phases of swimming. Thanks to that they consume the energetic resources economically and prolong their longevity. During free-swimming period the rate of oxygen uptake of *C. lingua* cercariae remains more or less stable. As in the case of *Renicola* sp. cercariae, it decreased drastically after the cercariae sinking to the bottom. Apparently such cercariae lose their ability to infect the second intermediate host (fish).

The study was supported by RFBR (project N 99-04-49788) and INTAS (project N 10224).