

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Кремнев Георгий Артурович

Жизненные циклы, филогения и эволюция трематод семейств  
*Acanthocolpidae* и *Brachycladiidae* (Digenea: Brachycladioidea)

1.5.17. Паразитология (биологические науки)

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
кандидат биологических наук  
Крупенко Дарья Юрьевна

Санкт-Петербург  
2024

## Оглавление

Введение.....	4
Актуальность и степень разработанности темы исследования.....	4
Цель и задачи работы.....	7
Теоретическая и практическая значимость.....	8
Основные положения, выносимые на защиту.....	9
Публикации.....	10
Структура и объем диссертации.....	10
Личный вклад автора.....	10
Благодарности.....	11
Глава 1 Обзор литературных данных.....	13
1.1 Систематика и филогения трематод семейств Acanthocolpidae и Brachycladiidae.....	13
1.2 Общая характеристика жизненных циклов трематод семейства Acanthocolpidae.....	16
1.3 Партеногенетические поколения трематод семейства Acanthocolpidae.....	28
1.4 Строение церкарий трематод семейства Acanthocolpidae.....	30
1.5 Поведение церкарий трематод семейства Acanthocolpidae.....	44
1.6 Биология метацеркарий трематод семейства Acanthocolpidae.....	49
1.7 Общая характеристика марит трематод семейства Acanthocolpidae.....	55
1.8 Общая характеристика жизненных циклов трематод семейства Brachycladiidae.....	56
1.9 Общая характеристика марит трематод семейства Brachycladiidae.....	57
Глава 2 Материал и методика.....	59
2.1 Сбор материала.....	59
2.2 Гистологические срезы и тотальные препараты.....	60
2.3 Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия.....	61
2.3 Сканирующая электронная микроскопия.....	62
2.4 Молекулярно-генетический анализ.....	62
2.5 Статистический анализ.....	64
Глава 3 Жизненные циклы трематод из семейства Brachycladiidae, строение их партенит и личинок.....	70
3.1 Обнаружение партенит и личинок трематод семейства Brachycladiidae.....	70
3.2 Анализ последовательностей <i>nad3</i> мтДНК.....	71
3.3 Анализ последовательностей 28S рДНК.....	72
3.4 Морфологические описания и данные о зараженности.....	74
Редии и церкарии <i>Orthosplanchnus arcticus</i> .....	74

Метацеркарии <i>Orthosplanchnus arcticus</i> .....	78
Редии и церкарии Brachycladiidae gen. sp. 1 WS .....	79
3.5 Обсуждение .....	83
Глава 4 Жизненные циклы трематод из семейства Acanthocolpidae, строение их партенит и личинок .....	91
4.1 Предварительная идентификация стадий жизненного цикла <i>Neophasis</i> spp. ....	91
4.2 Молекулярно-генетические данные и расшифровка жизненных циклов .....	91
4.3 Морфологические описания и данные о зараженности .....	94
Редии и церкарии <i>Neophasis oculata</i> .....	94
Метацеркарии <i>Neophasis oculata</i> .....	99
Мариты <i>Neophasis oculata</i> .....	101
Партениты, церкарии и метацеркарии <i>Neophasis anarrhichae</i> .....	103
Мариты <i>Neophasis anarrhichae</i> .....	106
4.4 Яйцепродукция метацеркарий <i>Neophasis anarrhichae</i> в первом промежуточном хозяине	106
4.5 Филогенетическое положение <i>Neophasis</i> spp. ....	110
4.6 Обсуждение .....	111
Глава 5 Обсуждение. Морфология личинок, жизненные циклы и эволюция трематод из таксона Brachycladioidea .....	118
5.1 Эволюционные особенности строения личинок надсемейства Brachycladioidea .....	118
5.2 Жизненные циклы Brachycladioidea. Эволюционное становление трематод семейства Brachycladiidae .....	119
5.3 Эволюция жизненных циклов трематод из семейства Acanthocolpidae .....	122
5.4 Возникновение вторично диксенного жизненного цикла <i>Neophasis anarrhichae</i> .....	123
Заключение .....	127
Выводы .....	128
Список публикаций по теме диссертации .....	130
Список литературы .....	131
Приложение. Таблицы .....	151

## Введение

### Актуальность и степень разработанности темы исследования

Трематоды (Trematoda: Digenea) — это наиболее богатая видами группа паразитических плоских червей из таксона Neodermata (Cribb et al., 2001). Пожалуй, самой выдающейся чертой дигенетических трематод является наличие сложного жизненного цикла. В нем происходит не только смена хозяев, но и чередуются несколько поколений, а также имеются две фазы дисперсии во внешней среде.

Одним из наиболее распространенных вариантов жизненного цикла трематод является треххозяиный (триксенный). В окончательном хозяине (различные позвоночные животные) паразитируют мариты, осуществляющие амфимиктическое размножение. После оплодотворения формируются яйца, в которых развиваются личинки первого партеногенетического поколения — мирацидии. Мирацидий заражает первого промежуточного хозяина, в качестве которого у подавляющего большинства трематод выступают моллюски (преимущественно брюхоногие или двустворчатые). В первом промежуточном хозяине мирацидий превращается в материнскую спороцисту, которая путем партеногенеза отрождает особей дочернего партеногенетического поколения. Последние могут быть представлены как редиями, так и спороцистами, внутри которых, также в результате партеногенетического размножения, формируются личинки гермафродитного поколения — церкарии. Церкарии покидают первого промежуточного хозяина и осуществляют поиск и заражение второго промежуточного хозяина, роль которого могут выполнять самые разные животные (членистоногие, моллюски, аннелиды, позвоночные и т.д.). Окончательный хозяин заражается при поедании вторых промежуточных хозяев, содержащих личинок — метацеркарий.

Примечательно, что жизненный цикл трематод не укладывается в рамки одной-единственной схемы. В одних группах он может усложняться за счет постциклической передачи марит по пищевой цепи (Køie, 1979; Gordeev, Sokolov, 2020; Tsuchida et al., 2022) или включения третьего промежуточного хозяина (Pearson, 1959; Галактионов, Добровольский, 1998; Möhl et al., 2009). В других таксонах происходит его упрощение за счет выпадения из путей циркуляции второго промежуточного или окончательного хозяина, в результате чего циклы становятся вторично диксенными (Галактионов, Добровольский, 1998; Bartoli et al., 2000; Poulin, Cribb, 2002; Pina et al., 2009; Galaktionov et al., 2012) или даже гомоксенными (Deblock, 1980; Poulin, Cribb, 2002). По-видимому, именно пластичность жизненного цикла и стала фактором, позволившим

трематодам достичь поразительного эволюционного успеха — высокого разнообразия освоенных местообитаний, широчайшего спектра используемых в качестве хозяев животных и колоссального видового богатства (Cribb et al., 2021).

Однако нельзя сказать, что наши знания о жизненных циклах трематод уже достигли исчерпывающей полноты, поскольку они расшифрованы не более чем у 10 % из ~20 000 номинальных видов (Littlewood, 2006; Cribb, Bray, 2011; Blasco-Costa, Poulin, 2017). Более того, мы все еще не знаем, как реализуется жизненный цикл у целого ряда крупных таксономических групп ранга семейств (Cribb, Bray, 2011), а в некоторых таксонах трематод наши сведения о спектре используемых промежуточных хозяев отрывочны либо противоречивы (Krupenko et al., 2020; Gonchar, Galaktionov, 2021; Galaktionov et al., 2023). При этом данные о жизненных циклах трематод имеют очень серьезную как прикладную, так и фундаментальную значимость. С одной стороны, знание спектра промежуточных хозяев может быть существенным подспорьем в борьбе с видами трематод, которые являются опасными патогенами человека, сельскохозяйственных или диких животных (Novobilský et al., 2013; Zheng et al., 2021). С другой стороны, данные о жизненных циклах помогают выявлять магистральные направления и закономерности эволюции трематод. Как происходила колонизация разных групп хозяев? Какие препятствия могут быть на этом пути и как трематоды их обходят? Как могут влиять на структуру жизненного цикла различные экологические факторы? Для ответа на эти и другие вопросы мы неизбежно приходим к необходимости более детального изучения жизненных циклов трематод.

В нашей работе мы сфокусировались на трематодах из групп Acanthocolpidae и Brachycladiidae, объединяемых в надсемейство Brachycladioidea (Pérez-Ponce de León, Hernández-Mena, 2019). Мариты акантокольпид являются всесветно распространенными паразитами морских костистых рыб (Bray, 2005). В реализации их жизненных циклов обычно принимают участие два промежуточных хозяина: морские гастроподы и костистые рыбы, реже моллюски. Представители семейства Brachycladiidae являются единственной богатой видами группой трематод, мариты которых паразитируют исключительно в морских млекопитающих (Gibson, 2002). Брахиक्ладииды не только являются космополитами, но также оказывают негативное влияние на своих окончательных хозяев, что в ряде случаев может приводить к гибели морских млекопитающих (Andersen-Ranberg et al., 2018; Nakagun et al., 2018). При этом жизненные циклы Brachycladiidae все ещё остаются нерасшифрованными. Применение молекулярно-генетических методов выявило родство акантокольпид и брахиक्ладиид еще в конце прошлого века (Fernández et al., 1998a). Результаты более поздних исследований продемонстрировали, что брахиक्ладииды являются сестринскими по отношению к одной из двух клад акантокольпид (Bray et al., 2005; Fraija-Fernández et al., 2015).

Близкое филогенетическое родство Acanthocolpidae и Brachycladiidae указывает, что партениты и личинки этих трематод могут обладать сходными чертами строения. В таком случае нельзя исключать, что в некоторых предыдущих работах стадии развития из промежуточных хозяев, на самом деле принадлежащие брахикладидам, были ошибочно приписаны тем или иным видам акантокольпид. Особое внимание в этом отношении привлекают к себе данные о жизненных циклах представителей рода *Neophasis* Stafford, 1904, относимого к семейству Acanthocolpidae (Bray, Gibson, 1991). Жизненный цикл *Neophasis oculata* (Levinsen, 1881) Miller, 1941 был описан в середине прошлого века Г.К. Чубрик (1956, 1966). Опираясь на внешнее сходство личинок и марит, она посчитала, что первым промежуточным хозяином этого вида является брюхоногий моллюск *Cryptonatica affinis* (Gmelin, 1791) (Littorinimorpha: Naticidae), вторым промежуточным — двустворчатые моллюски и морские костистые рыбы, а окончательным — морские рыбы. Позднее в *C. affinis*, а также гастроподах двух видов рода *Neptunea* Röding, 1798 (Neogastropoda: Buccinoidea), были обнаружены реди и церкарии *Neophasis* sp., морфологически сходные, но не идентичные партенитам и личинкам *N. oculata* (Марасаев, 1984). На первый взгляд, все эти результаты не кажутся какими-то необычными. Однако стоит лишь поместить наблюдения Г.К. Чубрик (1966) и С.Ф. Марасаева (1984) в более широкий контекст, как сразу же становится очевидной их несостыковка с данными о жизненных циклах прочих видов Acanthocolpidae.

Во-первых, у подавляющего большинства акантокольпид в качестве первого промежуточного хозяина выступают брюхоногие моллюски из надсемейства Buccinoidea, относящегося к совсем другому отряду нежели *C. affinis*, а именно — Neogastropoda (см. ниже и обзор в Barnett et al., 2010). И хотя в крупных таксономических группах трематод ранга семейства могут использоваться филогенетически удаленные первые промежуточные хозяева (Марасаев, 1988; Wee et al., 2021; Louvard et al., 2022), имеющиеся в настоящий момент литературные данные свидетельствуют скорее в пользу специализации акантокольпид именно на брюхоногих моллюсках надсемейства Buccinoidea. Более того, даже в пределах рода *Neophasis* в реализацию жизненного цикла вовлечены гастроподы семейства Buccinidae. Вторично диксенный жизненный цикл *Neophasis anarrhichae* (Nicoll, 1909) Bray, 1987 протекает с участием единственного промежуточного хозяина, брюхоногого моллюска *Buccinum undatum* Linnaeus, 1758 (Lebour, 1910; Чубрик, 1966). Во-вторых, и рыбы, и двустворчатые моллюски могут выступать в качестве второго промежуточного хозяина у других акантокольпид, но кроме *N. oculata* метацеркарий одного и того же вида никогда не находили в обеих этих группах животных.

Исходя из литературных данных мною были сформулированы два предположения. Во-первых, что партениты и личинки, отнесенные Г.К. Чубрик (1966) и С.Ф. Марасаевым (1984) роду *Neophasis*, могут принадлежать семейству Brachycladiidae. Во-вторых, что истинным

первым промежуточным хозяином *N. oculata* должны быть брюхоногие моллюски из семейства Vuscinidae. Результаты проверки данных предположений позволят получить новые данные по жизненным циклам Acanthocolpidae и Brachycladiidae и на их основе попытаться лучше понять эволюционную историю этих паразитов.

### Цель и задачи работы

Целью нашего исследования стало определение основных тенденций в эволюции жизненных циклов трематод из надсемейства Brachycladioidea. Для ее достижения были поставлены следующие задачи:

1. Проверить гипотезу о принадлежности к семейству Brachycladiidae партенит и личинок из натицидных гастропод и двустворчатых моллюсков, ранее отнесенных роду *Neophasis*. Установить филогенетическое положение этих трематод и описать их строение.
2. Пересмотреть устоявшееся в литературе представление о происхождении и эволюции Brachycladiidae.
3. Переописать жизненный цикл *Neophasis oculata*, мартиты которого паразитируют в морских рыбах. Верифицировать диксенный жизненный цикл *N. anarrhichae*.
4. Переописать строение партенит и личинок *N. oculata* и *N. anarrhichae*. Установить филогенетическое положение рода *Neophasis*.
5. Обозначить направление эволюции жизненных циклов для клады Acanthocolpidae, включающей в свой состав представителей рода *Neophasis*. Предложить сценарий возникновения вторично диксенного жизненного цикла *N. anarrhichae*.

### Научная новизна

Впервые получены данные о жизненных циклах трематод, использующих в качестве окончательных хозяев морских млекопитающих. Для двух видов семейства Brachycladiidae обнаружены первые промежуточные хозяева, которыми оказались брюхоногие моллюски из семейства Naticidae. Применение молекулярно-генетических методов позволило полностью расшифровать жизненный цикл *Orthosplanchnus arcticus* Odhner, 1905, паразита ластоногих и моржа. Мы показали, что его первым промежуточным хозяином является брюхоногий моллюск *Cryptonatica affinis*, а вторым промежуточным — двустворчатые моллюски из семейства Cardiidae. Для личинок двух видов изученных брахикладиид получены новые данные о строении железистой, фоторецепторной, пищеварительной, протонефридиальной и половой систем органов.

Впервые с помощью молекулярно-генетических методов продемонстрирована принадлежность трематод рода *Neophasis* Stafford, 1904 к одной из групп в пределах акантокольпид, Acanthocolpidae клада А. Также показано, что первым промежуточным хозяином *Neophasis oculata* на самом деле являются брюхоногие моллюски из семейства Buccinidae: *Buccinum undatum* и *Neptunea despecta* (Linnaeus, 1758). Подтверждено использование этим видом европейского керчака *Myoxocephalus scorpius* (Linnaeus, 1758) в качестве одного из вторых промежуточных и окончательных хозяев. Впервые описаны особенности строения церкарий и метацеркарий *N. oculata*. Верифицирован диксенный жизненный цикл *N. anarrhichae*. Значительно дополнены и уточнены имевшиеся в литературе описания материнских и дочерних партенит, а также церкарий и метацеркарий этого вида. Показано, что онтогенез гермафродитного поколения *N. anarrhichae* представляет собой непрерывный процесс: личинки могут полностью завершать свое развитие и приступать к яйцепродукции все еще находясь в единственном промежуточном хозяине — гастроподe *B. undatum*. Таким образом, для этого вида потенциально возможна гомоксенная реализация жизненного цикла.

### Теоретическая и практическая значимость

Результаты работы дополняют имеющиеся представления о многообразии и пластичности жизненных циклов трематод. Эволюцию трематод нередко представляют как эволюцию их жизненных циклов. Полученные нами результаты впервые позволили поместить представителей надсемейства Brachycladioidea именно в этот контекст. Выявление спектра промежуточных хозяев Brachycladiidae дало нам возможность предложить новый взгляд на эволюционное становление этого семейства. Кроме того, полученные данные закладывают фундамент для последующего, более детального изучения процесса колонизации морских млекопитающих трематодами, которое будет учитывать изменения, затронувшие жизненные циклы этих паразитов. В свою очередь, переописание и верификация жизненных циклов двух видов рода *Neophasis*, установление филогенетического положения этих трематод, а также обобщение литературных данных позволили нам очертить вероятное направление эволюции жизненных циклов, морфологии и поведения церкарий в пределах Acanthocolpidae клады А. Наконец, полученные результаты расширяют наши представления о причинах, приводящих к сокращению путей циркуляции и возникновению вторично диксенных жизненных циклов у трематод.

Изучение жизненных циклов паразитических организмов не менее важно с прикладной точки зрения. Без знания спектра промежуточных хозяев очень трудно проводить эффективную профилактику заболеваний, вызываемых патогенными для человека или животных видами трематод. Полученные нами данные о жизненных циклах Brachycladiidae могут быть применены



в ветеринарии для борьбы с теми видами этих трематод, которые вызывают серьезные поражения внутренних органов своих окончательных хозяев, морских млекопитающих.

Наконец, результаты и обобщения, представленные в данной работе, могут быть использованы и уже привлекаются для прочтения курсов лекций по зоологии и паразитологии.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Возникновение и последующая радиация *Brachycladiidae* были связаны с полной реорганизацией предкового варианта жизненного цикла.
2. Эволюция трематод *Acanthocolpidae* клады А была направлена на освоение бентопелагических и пелагических рыб-микрофагов в качестве вторых промежуточных хозяев, и это сопровождалось переходом церкарий к стратегии подражания добычи.
3. Возникновение вторично диксенного жизненного цикла *Neophasis anarrhichae* стало возможным благодаря приобретению непрерывного онтогенеза у гермафродитного поколения предковой формы, а его закрепление было обусловлено взаимоотношениями «хищник-жертва» между промежуточным и окончательным хозяевами.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Представленные в работе результаты получены с использованием прижизненных наблюдений, гистологических методов, конфокальной лазерной микроскопии и сканирующей электронной микроскопии. Совокупное использование такого широкого набора методов позволяет составить достаточно полное и подробное описание партенит и личинок трематод. Кроме того, нами были использованы молекулярно-генетические методы, такие как секвенирование фрагментов ядерных и митохондриальных маркеров, последующий молекулярно-филогенетический анализ. Применение этих методов зарекомендовало себя в качестве одного из самых надежных подходов, используемых для расшифровки сложных жизненных циклов трематод (Blasco-Costa, Poulin, 2017). Все представленные в работе результаты были опубликованы в зарубежных журналах высокого рейтинга и прошли независимое международное рецензирование.

Материалы диссертации были представлены на следующих всероссийских и международных конференциях:

- «Современная паразитология — основные тренды и вызовы» (VI съезд Паразитологического общества), всероссийская конференция с международным участием (Санкт-Петербург, 2018).

- Беломорская студенческая научная сессия СПбГУ — 2020, всероссийская конференция (Санкт-Петербург, 2020).
- XI международная конференция морские млекопитающие Голарктики (Москва, он-лайн, 2021).
- Беломорская студенческая научная сессия СПбГУ — 2022, всероссийская конференция (Он-лайн, 2022).
- VII Съезд Паразитологического общества: итоги и актуальные задачи, всероссийская конференция с международным участием (Петрозаводск, 2023).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 8 работ. Из них 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ и индексируемых международными базами данных научного цитирования Scopus и Web of Science Core Collection; 5 тезисов.

### **Структура и объем диссертации**

Работа состоит из введения, 5 глав, выводов, списка литературы и приложения. Основная часть работы изложена на 150 страницах, содержит 20 рисунков и 7 таблиц. Список литературы включает 225 наименований (33 на русском языке). Приложение к работе (4 страницы) содержит 2 таблицы.

### **Личный вклад автора**

Основная идея работы — необходимость перепроверки данных о спектре промежуточных хозяев *Neophasis* spp. — была сформулирована автором самостоятельно еще во время обучения в магистратуре. Им же принято самое непосредственное участие в многолетних полевых сборах материала в экспедиционных условиях, включающих в себя поимку животных, их вскрытие, определение найденных паразитов и последующую фиксацию разных стадий развития трематод. Практически все представленные в работе данные были получены и проанализированы автором самостоятельно. Исключение составляют только результаты статистического анализа (Рисунок 18), который был проведен В.А. Крапивиным. В двух из трех публикаций по теме исследования соискатель является первым автором, большая часть работы (не менее 80 %), в том числе концептуализация, изготовление иллюстраций и написание текста статей были выполнены им лично (при активном участии к.б.н. А.Г. Гончар и к.б.н. Д.Ю. Крупенко в качестве редакторов). Наконец, при подготовке к публикации третьей статьи автор

принимал участие в сборе материала, получении результатов, изготовлении иллюстраций, написании и редактировании текста работы.

### Благодарности

В первую очередь автор хотел бы выразить благодарность к.б.н. Андрею Александровичу Добровольскому (28.05.1939 — 16.07.2019), чья искренняя заинтересованность и руководство надо мной в старшей школе и бакалавриате определили мой путь не только как паразитолога, но и как исследователя, посвятившего себя изучению строения и жизненных циклов трематод. Кроме того, автор выражает самую глубокую признательность своему научному руководителю, к.б.н. Дарье Юрьевне Крупенко. В конечном счете, именно внимание, участие, забота, дружба и, что немаловажно, критика Дарьи Юрьевны окончательно сформировали меня как самостоятельного исследователя. Автор также хотел бы высказать самую глубокую признательность Дарье Юрьевне и к.б.н. Анне Георгиевне Гончар за их неоценимую помощь при редактировании текстов статей. Пользуясь случаем, я хочу выразить свою благодарность д.б.н., профессору Андрею Игоревичу Грановичу и д.б.н., профессору Кириллу Владимировичу Галактионову за их всестороннюю поддержку во время выполнения настоящей работы. Наконец, я очень признателен своей супруге Анастасии Дмитриевне Лянгузовой, за ее помощь в редактировании текста диссертации.

Выполнение данной работы было сопряжено с чрезвычайно интенсивными, многолетними полевыми сборами. В первую очередь автор хотел бы поблагодарить своих коллег, участников гранта РФФИ, вместе с которыми в 2019-2022 годах мы собирали и обрабатывали материал на Белом море: к.б.н. Алексея Александровича Миролубова, Ольгу Валерьевну Князеву, Владимира Александровича Крапивина, Александру Александровну Урядову, Анастасию Евгеньевну Зеленскую, Арсения Глебовича Гублера и Ольгу Алексеевну Скобкину. Много других замечательных биологов на разных этапах моей работы также помогали осуществлять сбор материала. Пользуясь случаем, я бы хотел поблагодарить каждого из них: д.б.н. Георгия Сергеевича Слюсарева, к.б.н. Евгения Леонидовича Яковиса, к.б.н. Ирину Александровну Екимову, к.б.н. Анну Леонидовну Михлину, к.б.н. Петра Александровича Смирнова, к.б.н. Михаила Валерьевича Иванова, Татьяну Саслановну Иванову, Ольгу Николаевну Котенко, Сергея Викторовича Багрова, Станислава Александровича Илюткина, Степана Дмитриевича Иванова, Григория Анатольевича Киселева и Екатерину Дмитриевну Никитенко. Кроме того, автор выражает благодарность Ли Дж. Барнетт (Dr. Leonie Barnett, Квинсленд, Австралия) за предоставление статьи с описанием личинки *Cercaria bengalensis* VII. Отдельно автор хотел бы выделить сотрудников НП СПбГУ, к.б.н. Анну Эдуардовну Романович и к.б.н. Алексея Эльвировича Машарского, чье оперативное участие в секвенировании

изучаемых трематод позволяло нам получать результаты в самые кратчайшие сроки. Наконец, автор хотел бы выразить благодарность своим близким друзьям, студентам и аспирантам кафедры Зоологии беспозвоночных СПбГУ, которые были для меня источником неиссякаемого вдохновения на протяжении последних пяти лет работы: Кириллу Лотонину, Елизавете Скалон, Антону Ковалеву, Станиславу Илюткину и Екатерине Фроловой.

Работа выполнялась при финансовой поддержке гранта РФФИ №19-74-10029. Материал собран с использованием технических возможностей полевых стационаров УНБ СПбГУ «Беломорская», ББС ЗИН РАН «Картеш» и ББС МГУ им. Н.А. Перцова. Для получения гистологических срезов и молекулярно-генетических данных было задействовано оборудование НП СПбГУ, РЦ «Развитие молекулярных и клеточных технологий» и оборудование лаборатории по изучению паразитических червей и протистов ЗИН РАН. Конфокальные исследования были проведены на базе НП СПбГУ, РЦ «Развитие молекулярных и клеточных технологий» и РЦ «Микроскопии и микроанализа». Электронно-микроскопические данные были получены с использованием оборудования ЦКП «Таксон» ЗИН РАН (<http://www.ckp-rf.ru/ckp/3038/>).

Напоследок хотелось бы отметить, что основная идея диссертации выросла из необходимости перепроверки ранее опубликованных данных о спектре промежуточных хозяев *Neophasis* spp. (Чубрик, 1966; Марасаев, 1984). Несмотря на то, что эти авторы ошибочно интерпретировали свои наблюдения, без их пионерных работ моё собственное исследование никогда бы не увидело свет в своем текущем виде. Поэтому, в завершение, я бы хотел выразить свою искреннюю благодарность Гелле Константиновне Чубрик и Сергею Федоровичу Марасаеву, равно как и прочим исследователям в этой области, за их неоценимый вклад в изучение жизненных циклов трематод из таксона Brachycladioidea.

## Глава 1 Обзор литературных данных

### 1.1 Систематика и филогения трематод семейств *Acanthocolpidae* и *Brachycladiidae*

*Acanthocolpidae* Lühe, 1906 — крупная, космополитная группа трематод, населяющая в основном морские, реже солоноватоводные биотопы. Мариты акантокольпид паразитируют преимущественно в морских рыбах и изредка отмечены у морских змей (Bray, 2005). В настоящее время в составе акантокольпид выделяют 17 родов и 192 вида (WoRMS, 2023a). Из них 8 родов (47 %) являются монотипичными, а больше половины видов (55 %) принадлежат роду *Stephanostomum* Looss, 1899. Традиционно акантокольпид разделяли на два подсемейства, *Acanthocolpinae* и *Stephanostominae* (Yamaguti, 1958), реже выделяли еще одно подсемейство, *Pleorchiiinae* (Скрябин, 1954). Основные различия между подсемействами сводятся к разнице в вооружении тегумента ротовой присоски. Для марит *Stephanostominae* характерно наличие двух рядов крупных циркуморальных шипов, расположенных в шахматном порядке. У *Acanthocolpinae* и *Pleorchiiinae* циркуморальные шипы либо отсутствуют, либо не так ярко выражены. Как отмечают специалисты по систематике, акантокольпиды представляют собой сборную группу, в состав которой некоторые роды и виды были включены без значительного на то основания (Bray, 2005). До появления молекулярно-генетических данных, акантокольпид сближали с представителями семейств *Troglotremitidae* и *Allocreadiidae* (La Rue, 1957; Brooks et al., 1985) или с трематодами из семейства *Brachycladiidae* (Cable, 1974).

*Brachycladiidae* Odhner, 1905 (синонимизированные названия: *Campulidae* Odhner, 1926, *Nasitremitidae* Ozaki, 1935) — относительно небольшая, всеветно распространенная группа трематод. Мариты брахикладиид паразитируют исключительно в морских млекопитающих: зубатых и усатых китах, ушастых и настоящих тюленях, морже и калане (Делямуре, 1955; Gibson, 2002). Кроме того, представители рода *Hunterotrema* были отмечены у амазонского речного дельфина (McIntosh, 1960; Dailey, 1971). Наконец, стоит упомянуть о единичной находке одной половозрелой особи *Campula oblonga* Cobbold, 1858 в печени акулы-лисицы (Adams et al., 1998). Брахикладиид традиционно разделяли на два подсемейства, *Brachycladiinae* и *Nasitremitinae* (Gibson, 2005). Мариты *Brachycladiinae* обладают кишечником Н-образной формы и паразитируют в пищеварительном тракте и связанных с ним железах (печень, желчный пузырь и их протоки) тюленей, китов, моржа и калана. В противовес им *Nasitremitinae* лишены передних

слепых ветвей кишечника и паразитируют в назальных пазухах или печени китообразных. В настоящее время в составе Brachycladiidae выделяют 11 родов и 50 видов (WoRMS, 2023b).

В «домолекулярную эпоху» брахикладиид чаще всего сближали с трематодами из семейства Fasciolidae (Stunkard, Alvey 1930; Скрябин, 1948; Brooks et al., 1985). В качестве общих признаков указывали паразитирование марит обеих групп в млекопитающих, сходное место локализации (печень и ассоциированные с ней протоки), а также устройство пищеварительной системы (кишечник, снабженный дивертикулами/кишечник Н-образной формы). При этом еще в начале XX века некоторые авторы отмечали морфологическое сходство марит Acanthocolpidae и Brachycladiidae, проявляющееся, в частности, в характере вооружения семяизвергательного канала и метратерма (Odhner, 1905). Поэтому неудивительно, что в литературе существовала и альтернативная точка зрения, представленная в работах Ф.М. Наххаса и Р.М. Кэйбла, которые сближали брахикладиид с акантокольпидами (Nahhas, Cable, 1964; Cable, 1974). Они отмечали, что не только мариты этих групп трематод обладают сходными чертами строения, но и что их церкарии тоже похожи друг на друга. При этом описание церкарии, предположительно относящейся к виду *Orthosplanchnus fraterculus* Odhner, 1905 (Brachycladiidae), в дальнейшем так и не было опубликовано. Примечательно, что в своем более позднем кладистическом анализе Д.Р. Брукс с соавторами также сближали Acanthocolpidae и Brachycladiidae (Brooks et al., 1989).

Уже на заре применения молекулярно-генетических методов были показаны сестринские взаимоотношения между акантокольпидами и брахикладидами (Fernández et al., 1998a; Olson et al., 2003). Однако положение этих таксонов в макросистеме трематод все еще остается нестабильным и меняется в зависимости от типа анализа и используемых для филогенетических построений последовательностей ДНК. В масштабной работе 2003 года филогенетическая реконструкция, основанная на фрагментах рибосомального оперона (18S и 28S рДНК), показала сестринские отношения между Acanthocolpidae + Brachycladiidae и Oprescoelidae + Opistholebetidae (Olson et al., 2003). Эти четыре семейства трематод были объединены в надсемейство Allocreadioidea в составе подотряда Xiphidiata, отряд Plagiorchiida. В получившейся реконструкции аллокреадиоидеи оказались одной из очень близких к кроне групп трематод, позже которых дивергировали только надсемейства Plagiorchioidea и Microphalloidea (Olson et al., 2003).

В более поздней реконструкции филогении трематод, основанной на анализе тех же рибосомальных фрагментов, Acanthocolpidae + Brachycladiidae были переведены в ранг самостоятельного надсемейства Brachycladioidea (Pérez-Ponce de León, Hernández-Mena, 2019). Они сохранили положение, близкое к кроне дерева, однако их ближайшими родственниками оказались уже не Oprescoelidae + Opistholebetidae, а семейства Paragonimidae и Troglotrematidae, либо же таксоны, объединяемые в группу Gorgoderoidea (в зависимости от используемого

рибосомального маркера и типа анализа). Paragonimidae также были выявлены в качестве сестринского таксона Brachycladioidea на филогенетических деревьях, полученных в результате анализа митохондриальных геномов (Briscoe et al., 2016; Suleman et al., 2020, 2021; Atopkin et al., 2023). При этом ближайшими родственниками Brachycladioidea + Paragonimidae оказались трематоды из семейств Opisthorchiidae и Heterophyidae (Opisthorchioidea), а не включенные в анализ представители Xiphidiata (*sensu* Olson et al., 2003).

Взаимоотношения внутри Brachycladioidea также не являются окончательно устоявшимися. Так, уже давно была показана искусственность разделения брахикладиид на два подсемейства, Brachycladiiinae и Nasitreminae, причем это подтверждалось при анализе как митохондриальных генов, так и рибосомальных маркеров (Fernández et al., 1998b; Fraija-Fernández et al., 2015). Однако в недавней работе, выполненной на большей выборке анализируемых видов, данное утверждение было подвергнуто сомнению (Kim et al., 2023). Этими авторами было показано, что при построении молекулярно-филогенетического дерева на основе гена *nad3* мтДНК, виды рода *Nasitrema* Ozaki, 1935 формируют монофилетичную кладу, сестринскую всем прочим брахикладиидам. При этом результаты молекулярно-филогенетического анализа по фрагменту 28S рДНК выявили несколько иную картину, согласно которой монофилетическая кладка, сестринская прочим брахикладиидам, образована видами рода *Nasitrema* вместе с тремя видами парафилетического рода *Synthesium* Stunkard & Alvey, 1930 (Kim et al., 2023).

Взаимоотношения внутри акантокольпид оказались еще более сложными. Во-первых, была продемонстрирована полифилетичность Acanthocolpidae. Из состава этой группы был выведен род *Cableia* Sogandares-Bernal, 1959, оказавшийся представителем другого семейства трематод — Monorchiiidae (Olson et al., 2003; Bray et al., 2005). Во-вторых, оказалось, что оставшиеся акантокольпиды, возможно, парафилетичны: они делятся на две хорошо очерченные группы, одна из которых в целом ряде работ оказывается сестринской к брахикладиидам (Bray et al., 2005; Barnett et al., 2010; Curran, Pulis, 2014; Fraija-Fernández et al., 2015; Barnett, Miller, 2018). Таким образом, можно утверждать, что с большой вероятностью Acanthocolpidae в традиционном понимании включают в свой состав Brachycladiidae. При этом формально эти данные не были зафиксированы в номенклатурных актах, т.е. акантокольпид пока ещё не разделили на два отдельных семейства, поскольку значения статистической поддержки в имеющихся филогенетических реконструкциях не позволяют уверенно говорить о парафилии Acanthocolpidae. Примечательно, что в литературе можно встретить молекулярно-филогенетические реконструкции, в которых воспроизводится монофилия Acanthocolpidae, которые оказываются сестринским таксоном по отношению к Brachycladiidae (Marigo et al.,

2011). Однако ограниченное число включенных в анализ видов и не самые высокие значения статистической поддержки не позволяют относиться к этим результатам с достаточным доверием.

Итак, в большинстве из перечисленных работ по молекулярной филогении группа Brachycladioidea включает в свой состав три таксона, монофилетичность которых не вызывает никаких сомнений. Первый состоит из нескольких видов акантокольпид: *Monostephanostomum nolani* Bray & Cribb, 2007, *Pseudolepidapedon balistis* Manter, 1940, двух видов, известных только по редиям и церкариям — *Cercaria capricornia* VII и VII — а также видов рода *Stephanostomum* (Bray et al., 2005; Barnett et al., 2010; Curran, Pulis, 2014; Fraija-Fernández et al., 2015; Barnett, Miller, 2018). Второй таксон представлен прочими отсеквенированными видами акантокольпид: *Pleorchis polyorchis* (Stossich, 1888) Stiles, 1896, *P. uku* Yamaguti, 1970, *Tormopsolus orientalis* Yamaguti, 1934 и еще тремя близкими видами, известными только по редиям и церкариям — *Cercaria capricornia* группы 1–3<sup>1</sup> (Bray et al., 2005; Curran, Pulis, 2014; Fraija-Fernández et al., 2015; Barnett, Miller, 2018). Наконец, третий таксон объединяет в своем составе только виды из семейства Brachycladiidae (Fraija-Fernández et al., 2015; Barnett, Miller, 2018; Pérez-Ponce de León, Hernández-Mena, 2019). Неустойчивость взаимоотношений внутри Brachycladioidea, по-видимому, обусловлена достаточно ограниченным набором данных, доступных для молекулярно-генетического анализа в настоящий момент. Так, представители двух из одиннадцати родов брахикладиид — *Cetitrema* A. S. Skrjabin, 1970 и *Odhneriella* Skrjabin, 1915 — все еще не отсеквенированы. Гораздо хуже обстоят дела с акантокольпидами. Для подавляющего большинства родов этой группы трематод, включая виды рода *Neophasis* Stafford, 1904, в базе данных GenBank отсутствуют какие-либо генетические последовательности.

## 1.2 Общая характеристика жизненных циклов трематод семейства *Acanthocolpidae*

Для подавляющего большинства изученных акантокольпид характерны триксенные жизненные циклы, в которых первым промежуточным хозяином служат морские ценогастроподы (Caenogastropoda), вторым промежуточным — рыбы или моллюски (двустворчатые/головоногие), а окончательным — морские рыбы.

---

<sup>1</sup> Исходно Л.Дж. Барнетт с соавторами описали шесть различающихся по своему строению личинок, которым были присвоены временные названия *Cercaria capricornia* I–VI (Barnett et al., 2008). Позднее Л.Дж. Барнетт и Т.Л. Миллер, используя молекулярно-генетические методы, показали, что эти личинки на самом деле принадлежат не шести, а трем видам акантокольпид, которые были обозначены как *Cercaria capricornia* группы 1–3 (Barnett, Miller, 2018). Состав этих групп следующий. *Cercaria capricornia* I и II принадлежат первому виду (группа 1), *Cercaria capricornia* III–V относятся ко второму виду (группа 2), а *Cercaria capricornia* VI принадлежат третьему виду (группа 3).



Следует сразу же уточнить, что жизненные циклы акантокольпид исследованы крайне неравномерно. К настоящему моменту они полностью расшифрованы только у семи видов, пять из которых принадлежат роду *Stephanostomum*, а оставшиеся два — роду *Neophasis* (Lebour, 1910; Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Stunkard, 1961; Чубрик, 1966; Køie, 1978; Madhavi, Shameem, 1993). Для одного из видов рода *Tormopsolus* Roche, 1926 жизненный цикл был расшифрован частично (Bartoli, Gibson, 1998). Этими авторами было проведено экспериментальное заражение нескольких видов губановых рыб крупными церкариями неизвестного вида трематод. Выросшие в результате эксперимента метацеркарии были отнесены роду *Tormopsolus* на основании нескольких морфологических признаков: отсутствия циркум-оральных шипов и наличия урпрокта (Bartoli, Gibson, 1998). Кроме того, в литературе описаны редии и церкарии ещё 14-ти видов, которых принято считать партенитами и личинками акантокольпид (Lebour, 1911; Miller, Northup, 1926; Cable, 1956, 1963; Holliman, 1961; Марасаев, 1984; Shimura, 1984; Gnana Mani, 1994; Barnett et al., 2008, 2010; Barnett, Miller, 2018). Из всех них только для *Cercaria capricornia* VII, VIII и *Cercaria capricornia* групп 1-3 принадлежность к акантокольпидам была доказана с помощью молекулярно-генетических методов (Barnett et al., 2010; Barnett, Miller, 2018). Результаты экспериментальной работы Х.У. Станкарда показали, что *Cercaria dipteroerca*, описанная Г.М. Миллером и Ф.И. Норфап, является личинкой *Stephanostomum dentatum* (Linton, 1900) Manter, 1931 (Miller, Northup, 1926; Stunkard, 1961). *Cercaria neptuneae* чаще всего рассматривают в качестве церкарии *Stephanostomum bacatum* (Nicoll, 1907) Manter, 1934, опираясь на сходство строения обеих личинок (Lebour, 1911; Wolfgang, 1955; Bray, Gibson, 1991). Еще у нескольких видов акантокольпид известны вторые промежуточные хозяева и описаны метацеркарии. Это 11 видов рода *Stephanostomum*, по одному виду из родов *Tormopsolus*, *Manteria* Caballero у С., 1950, *Acanthocolpus* Lühe, 1906 и *Stephanostomoides* Mamaev & Oshmarin, 1966, а также метацеркария *Acanthocolpidae* gen. sp. (Таблица 1; Stafford, 1904; Lühe, 1906; Синицин, 1911; Yamaguti, 1934, 1936; Мамаев, Ошмарин, 1966; Overstreet, Hochsberg, 1975; Rojas et al., 1999; Perez-Urbiola, Martinez-Diaz, 2001; Vidal-Martínez et al., 2012; Bennett et al., 2023; De Benedetto et al., 2023).

Следует также отметить, что жизненные циклы акантокольпид крайне неравномерно изучены и в географическом масштабе, поскольку подавляющее большинство таких работ было выполнено в Северном полушарии. В Южном полушарии ни одного жизненного цикла все еще полностью не расшифровано, а имеющиеся работы по описанию партенит и личинок буквально единичны (Rojas et al., 1999; Barnett et al., 2008, 2010). Слабо изучены промежуточные хозяева в целом ряде регионов нашей планеты, для которых известно достаточно высокое видовое разнообразие мари́т акантокольпид. Например, в Южно-Китайском море обитает не менее 14-ти видов акантокольпид (Truong et al., 2022), и только для двух из них имеются очень краткие

описания метацеркарий (Мамаев, Ошмарин, 1966). Как минимум девять видов акантокольпид известно из рыб, обитающих в водах Индийского океана (Hafeezullah, 1971, 1991), но лишь для одного из них был расшифрован жизненный цикл (Madhavi, Shameem, 1993). Наконец, в рыбах Кораллового моря паразитируют мариты не менее 15-ти видов акантокольпид (Bray, Justine, 2011, 2012), однако видовая принадлежность пяти партенит и личинок, описанных из этого региона, все еще остается неизвестной (Barnett et al., 2008, 2010; Barnett, Miller, 2018).

Стоит упомянуть две работы, в которых стадии развития трематод из промежуточных хозяев были, на наш взгляд, ошибочно отнесены к группе Acanthocolpidae. Так, некоторые авторы рассматривают партенит и личинок *Cercaria criollisima* V, описанных П. Назиром (Nasir, 1976) в качестве какого-то вида акантокольпид (Madhavi, Shameem, 1993). Мы категорически не согласны с такой трактовкой, поскольку церкарии *C. criollisima* V развиваются в спороцистах, а не в редиях, а их ротовая присоска выполняет, скорее, не прикрепительную функцию, а участвует в проникновении во второго промежуточного хозяина, что делает их непохожими на партенит и личинок других акантокольпид. Кроме того, партениты этого вида паразитируют в двустворчатых моллюсках, а не в гастроподах, что также резко отличает его от всех прочих акантокольпид (см. ниже). Ошибочным мы считаем и определение метацеркарии из устрицы *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) в качестве представителя рода *Stephanostomum* (Grano-Maldonado et al., 2019). Во-первых, в отличие от подавляющего большинства известных метацеркарий акантокольпид, у нее отсутствует пара пигментированных глаз. Во-вторых, мочевого пузыря этой метацеркарии обладает V-образной, а не мешковидной формой, а главные собирательные каналы заполнены крупными экскреторными гранулами, что не характерно для личинок других акантокольпид. Наконец, у этой метацеркарии имеется воротничок, снабженный крупными шипами, а циркуморальные шипы отсутствуют. Принимая эти факты во внимание, становится понятно, что описанная Грано-Мальдонадо с соавторами личинка, вероятнее всего, принадлежит к совершенно другой группе трематод — надсемейству Echinostomatoidea.

По имеющимся на настоящее время данным, в качестве первого промежуточного хозяина акантокольпиды используют брюхоногих моллюсков из таксона Caenogastropoda, обитающих как в литоральных, так и в сублиторальных морских и солоноватоводных сообществах. В основном это различные виды пяти семейств гастропод, входящих в состав группы Buccinoidea, отряда Neogastropoda: Buccinidae, Columbellidae, Fascioliidae, Pisaniiidae, Nassariidae (см. обзор в Barnett et al., 2010). У трех видов акантокольпид редии и церкарии описаны из брюхоногих моллюсков семейства Naticidae, относящихся к отряду Littorinimorpha: это *Neophasis* sp., *N. oculata* и *Stephanostomum caducum* (Looss 1901) Manter 1934 (Чубрик, 1966; Марасаев, 1984; Kōie, 1978). Примечательно, что у вида *Neophasis* sp. редии и церкарии обнаружены одновременно и в натицидной гастроподе *Cryptonatica affinis* (Gmelin, 1791), и в

букцинидных брюхоногих моллюсках *Neptunea despecta* и *N. borealis* (Philippi, 1850) (Марасаев, 1984). Достоверность этих наблюдений вызывает серьезные сомнения, если учитывать характерную для трематод узкую специфичность по отношению к первому промежуточному хозяину (Гинесинская, 1968; Галактионов, Добровольский, 1998; Cribb et al., 2001).

Впечатляет спектр вторых промежуточных хозяев акантокольпид, охватывающий, в первую очередь, морских костистых рыб относящихся к 17 отрядам и 26 семействам (Таблица 1)<sup>2</sup>: Acanthuriformes (Leiognathidae, Acanthuridae); Anguilliformes (Anguillidae); Atheriniformes (Atherinopsidae); Blenniiformes (Tripterygiidae); Carangiformes (Carangidae); Clupeiformes (Dorosomatidae, Pristigasteridae); Cyprinodontiformes (Fundulidae); Eupercaria *incertae sedis* (Labridae; Sciaenidae; Sparidae); Gadiformes (Gadiidae, Merlucciidae); Gobiiformes (Gobiidae); Mugiliformes (Mugilidae); Mulliformes (Mullidae); Ovalentaria *incertae sedis* (Pomacentridae); Perciformes (Pinguipedidae; Serranidae); Pleuronectiformes (Pleuronectidae); Scorpaeniformes (Agonidae; Cottidae; Hexagrammidae; Liparidae); Tetraodontiformes (Tetraodontidae). Кроме того, метацеркарии *Stephanostomum ceylonicum* (Lühe, 1906) Caballero, 1952 были описаны из хрящевой рыбы — электрического ската (Lühe, 1906). Не менее разнообразна и биология рыб, в которых паразитируют метацеркарии акантокольпид. Среди них можно обнаружить типичных обитателей бентосных сообществ, таких как бычкообразные, камбаловые, морские караси, нарциновые, скорпенообразные, собачкообразные, сребробрюшковые, тресковые, угревые (Stafford, 1904; Lühe, 1906; Синицин, 1911; Yamaguti, 1934, 1936; Полянский, 1955; Wolfgang, 1955; Жуков, 1963; Køie, 1978; Oliveira, Campbell, 1998; Pérez-del Olmo et al., 2007; Bennett et al., 2023; De Benedetto et al., 2023). Гораздо чаще, однако, метацеркарии акантокольпид паразитируют в рыбах, ведущих бентопелагический образ жизни, например в барабулевых, горбылевых, губановых, иглобрюхих, каменных окунях, кефалевых, помацентровых, ставридовых, тресковых, фундуловых, хирурговых (Жуков, 1963; Bartoli, Gibson, 1998; Rojas et al., 1999; Vidal-Martínez et al., 2012). И, наконец, личинки некоторых видов акантокольпид используют в качестве вторых промежуточных хозяев настоящих обитателей пелагиали, таких как атеринопсовые и сельдеобразные (Martin, 1939; Stunkard, 1961; Мамаев, Ошмарин, 1966). Помимо рыб, метацеркарии акантокольпид могут паразитировать и у некоторых бентосных беспозвоночных животных. Личинки рода *Stephanostomum* известны из двустворчатых моллюсков семейств Mutilidae и Pectinidae (Madhavi, Shameem, 1993; Pérez-Urbiola, Martínez-Díaz, 2001) и осьминога (Overstreet, Hochberg, 1975), а метацеркарии *N. oculata* были обнаружены Г.К. Чубрик (1966) в двустворчатых моллюсках из семейств Astartidae и Cardiidae. Здесь мы снова хотели бы заострить внимание читателя на том, что только у *N. oculata* метацеркарии описаны одновременно из рыб

<sup>2</sup> Актуальные названия таксонов рыб были взяты с сайта WoRMS (<https://www.marinespecies.org/index.php>).

и из двусторчатых моллюсков (Чубрик, 1966). Личинки же прочих видов акантокольпид паразитируют либо в рыбах, либо в беспозвоночных животных (Таблица 1, 2).

**Таблица 1.** Размерные характеристики метацеркарий Acanthocolpidae, таксономическая принадлежность и особенности биологии их хозяев. Для удобства восприятия, не определенным до вида метацеркариям рода *Stephanostomum* и *Tormopsolus* присвоены порядковые номера. Сокращения: П – природные наблюдения; Э – экспериментальные заражения; ? – информация в работе не приведена. Звездочкой отмечены литературные источники, в которых детальное описание строения личинки не приведено.

Вид	Источник	Размер цисты, мкм	Длина, мкм	Ширина, мкм	Хозяин		Локализация	Место обитания хозяина	
<i>Stephanostomum hystrix</i> (Dujardin, 1845) Looss, 1899	Stafford, 1904*	1000 × 750	1800	600	<i>Pseudopleuronectes americanus</i> (Walbaum, 1792)	Teleostei: Pleuronectiformes: Pleuronectidae	П	Плавники	Бентосные сообщества
<i>Stephanostomum ceylonicum</i> (Lühe, 1906) Caballero, 1952	Lühe, 1906	500–800	2000–2600	250	<i>Narcine timlei</i> (Bloch & Schneider, 1801)	Elasmobranchii: Torpediniformes: Narcinidae	П	Подкожные ткани	Бентосные сообщества
<i>Stephanostomum</i> sp. 1	Синицин, 1911	420, 770	1000, 1700	350, 600	<i>Gobius</i> sp.?	Teleostei: Gobiiformes: Gobiidae	П	Полость мочевого пузыря	Бентосные сообщества
<i>Stephanostomum japonicum</i> (Yamaguti, 1934) Manter & Van Cleave, 1951	Yamaguti, 1934	1000	?	?	<i>Lotella phycis</i> (Temminck & Schlegel, 1846)	Teleostei: Gadiformes: Moridae	П	Мускулатура	Бентосные сообщества
		?	1780	?	<i>Engraulis japonicus</i> Temminck & Schlegel, 1846	Teleostei: Clupeiformes: Engraulidae	П	Ротовая полость	Пелагические сообщества
<i>Stephanostomum</i> sp. 2	Yamaguti, 1934	1000	4008	?	<i>Argentina kagoshimae</i> Jordan & Snyder, 1902	Teleostei: Argentiniformes: Argentinidae	П	Мускулатура	Глубоководные бентосные сообщества

## Продолжение Таблицы 1

<i>Stephanostomum bicoronatum</i> (Stossich, 1883) Fuhrmann, 1928	Yamaguti, 1936	570–780	1006–1900	380–400	<i>Acanthogobius hasta</i> (Temminck & Schlegel, 1845)	Teleostei: Gobiiformes: Gobiidae	П	Полость тела	Бентосные сообщества
		700	1250–1350	310–340	<i>Sciaena</i> sp.	Teleostei: Eupercaria incertae sedis: Sciaenidae	П		Жабры
		?	?	?	<i>Taenioides</i> sp.	Teleostei: Gobiiformes: Gobiidae	П		
<i>Stephanostomum hispidum</i> (Yamaguti, 1934) Manter, 1940	Yamaguti, 1936	1000–1100	3900	900	<i>Pseudorhombus pentophthalmus</i> Günther, 1862	Teleostei: Pleuronectiformes: Paralichthyidae	П	Мускулатура	Бентосные сообщества
					<i>Parapercis sexfasciata</i> (Temminck & Schlegel, 1843)	Teleostei: Perciformes: Pinguipedidae	П		
<i>Tormopsolus</i> sp. 1	Yamaguti, 1936	580–900 × 380–480	1650	250	<i>Equulites rivulatus</i> (Temminck & Schlegel, 1845)	Teleostei: Acanthuriformes: Leiognathidae	П	Жабры	Бентосные сообщества
<i>Stephanostomum tenue</i> (Linton, 1898) Linton, 1934	Martin, 1939	?	?	?	<i>Menidia menidia</i> (Linnaeus, 1766)	Teleostei: Atheriniformes: Atherinopsidae	П, Э	Печень, мезентерии	Пелагические сообщества
<i>S. tenue</i>	Stunkard, 1961	?	1690	?	<i>Fundulus heteroclitus</i> (Linnaeus, 1766)	Teleostei: Cyprinodontiformes: Fundulidae	П	?	Бентопелагические сообщества

## Продолжение Таблицы 1

<i>S. tenue</i>	Oliveira, Campbell, 1998*	?	?	?	<i>Anguilla rostrata</i> (Lesueur, 1817)	Teleostei: Anguilliformes: Anguillidae	П, Э	Полость околосердечной сумки, полость тела, мускулатура	Бентосные сообщества
<i>Stephanostomum baccatum</i> (Nicoll, 1907) Manter, 1934	Wolfgang, 1955	1000–1800	440–2400	230–660	Различные виды камбаловых рыб	Teleostei: Pleuronectiformes	П, Э	Мускулатура, кожа, реже жабры	Бентосные сообщества
<i>Stephanostomum dentatum</i> (Linton, 1900) Linton, 1940	Stunkard, 1961	280–370 × 200–270	300–600	?	<i>M. menidia</i>	Teleostei: Atheriniformes: Atherinopsidae	П, Э	Ротовая полость, мезентерии, печень	Пелагические сообщества
					<i>F. heteroclitus</i>	Teleostei: Cyprinodontiformes: Fundulidae			П, Э
<i>Acanthocolpus liodorus</i> Lühe, 1906	Мамаев, Ошмарин, 1966	580–800 × 350–400	1000–1300	280–300	<i>Sardinella</i> sp.	Teleostei: Clupeiformes: Dorosomatidae	П	Стекловидное тело глаза	Пелагические сообщества
					<i>Ilisha</i> sp.	Teleostei: Clupeiformes: Pristigasteridae			
<i>Stephanostomoides tenuis</i> (Manter, 1963) Hafeezullah, 1978	Мамаев, Ошмарин, 1966	не приведен	600	400	<i>M. menidia</i>	Teleostei: Atheriniformes: Atherinopsidae	П	Жабры	Пелагические сообщества
<i>Neophasis oculata</i> (Levinsen, 1881) Miller, 1941	Чубрик, 1966	100–180	500	210	<i>Astarte crenata</i> (J. E. Gray, 1824)	Bivalvia: Carditida: Astartidae	П	Стенка мантии	Бентосные сообщества
					<i>Cerastoderma edule</i> (Linnaeus, 1758)	Bivalvia: Cardiida: Cardiidae			
<i>Neophasis anarrhichae</i> (Nicoll, 1909) Bray, 1987	Чубрик, 1966	циста отсутствует	210–380	90–170	<i>Buccinum undatum</i> Linnaeus, 1758	Gastropoda: Neogastropoda: Buccinidae	П	Гепатопанкреас (в зародышевой полости редий)	Бентосные сообщества

## Продолжение Таблицы 1

<i>Stephanostomum</i> sp. 3	Overstreet, Hochsberg, 1975	?	1102–3316	?	<i>Octopus briareus</i> G. C. Robson, 1929	Cephalopoda: Octopoda: Octopodidae	П	Мантийная полость, кишечный мезентерий, жабры	Бентосные сообщества
<i>Stephanostomum caducum</i> (Looss, 1901) Manter, 1934	Køie, 1978	210 (180– 245) × 200 (170– 225)	325 (310– 350)	150 (130–180)	<i>Pomatoschistus minutus</i> (Pallas, 1770)  <i>P. pictus</i> (Malm, 1865)  <i>P. flavescens</i> (Fabricius, 177)	Teleostei: Gobiiformes: Gobiidae	П, Э  П, Э  Э	Ротовая полость, реже жабры или брюшные плавники	Бентосные сообщества
<i>Stephanostomum cloacum</i> (Srivastava, 1938) Manter & Van Cleave, 1951	Madhavi, Shameem, 1993	216–228	760–778	232–244	<i>Brachidontes undulatus</i> (Dunker, 1857)	Bivalvia: Mytilida: Mytilidae	П, Э	Жабры	Бентосные сообщества
<i>Tormopsolus</i> sp. 2	Bartoli, Gibson, 1998	?	722 (645– 800)	259 (192–373)	<i>Symphodus ocellatus</i> (Linnaeus, 1758)  <i>S. rostratus</i> (Bloch, 1791)	Teleostei: Eupercaria incertae sedis: Labridae	Э  Э	Ротовая полость, реже жабры	Бентопелагические сообщества
<i>Manteria</i> sp.	Rojas et al., 1999	1100 (800– 1500)	1800 (1700– 2100)	854 (780– 1100)	<i>Caprodon longimanus</i> (Günther, 1859)	Teleostei: Perciformes: Serranidae	П	Мускулатура	Бентопелагические и бентосные сообщества
<i>Stephanostomum euzeti</i> Bartoli & Bray, 2004	Pérez-del Olmo et al., 2007	?	2660–3314	478–641	<i>Boops boops</i> (Linnaeus, 1758)	Teleostei: Eupercaria incertae sedis: Sparidae	П	Мускулатура грудных плавников	Бентосные сообщества
Acanthocolpidae gen. sp.	Vidal-Martínez et al., 2012	?	240–715	75–82	<i>Mulloidichthys vanicolensis</i> (Valenciennes, 1831)  <i>Osteomugil engeli</i> (Bleeker, 1858)	Teleostei: Mulliformes: Mullidae  Teleostei: Mugiliformes: Mugilidae	П  П	Плавники  Головной мозг, сердце, мускулатура	Бентосные сообщества



## Продолжение Таблицы 1

<i>Stephanostomum</i> sp. 4	Vidal-Martínez et al., 2012	?	1230 (810–2050)	264 (220–350)	<i>Caranx papuensis</i> Alleyne & MacLeay, 1877	Teleostei: Carangiformes: Carangidae	П	Стенка кишечника	Бентопелагические и пелагические сообщества
					<i>Abudefduf septemfasciatus</i> (Cuvier, 1830)	Teleostei: Ovalentaria incertae sedis: Pomacentridae	П	Мускулатура	Бентосные сообщества
					<i>O. engeli</i>	Teleostei: Mugiliformes: Mugilidae	П	Плавники	Бентопелагические сообщества
					<i>Acanthurus triostegus</i> (Linnaeus, 1758)	Teleostei: Acanthuriformes: Acanthuridae	П	Плавники	Бентопелагические сообщества
					<i>Arothron hispidus</i> (Linnaeus, 1758)	Teleostei: Tetraodontiformes: Tetraodontidae	П	Плавники	Бентопелагические сообщества
<i>Stephanostomum</i> sp. 5	Bennett et al., 2023*	?	?	?	<i>Forsterygion</i> sp.	Teleostei: Blenniiformes: Tripterygiidae	П	Полость тела	Бентосные сообщества
<i>Stephanostomum cesticillus</i> (Molin, 1858) Looss, 1899	De Benedetto et al., 2023*	130	?	?	<i>Merluccius merluccius</i> (Linnaeus, 1758)	Teleostei: Gadiformes: Merlucciidae	П	Мускулатура, сердце	Бентосные сообщества

Таблица 2. Задokumentированный спектр вторых промежуточных хозяев *Neophasis oculata*.

Источник	Хозяин		Локализация	Место обитания хозяина
Levinsen, 1881	<i>Myoxocephalus scorpius</i> (Linnaeus, 1758)	Teleostei: Perciformes: Cottidae	Мускулатура, жабры	Бентосные сообщества
Догель, Розова, 1941	<i>Myoxocephalus quadricornis</i> (Linnaeus, 1758)	Teleostei: Perciformes: Cottidae	Мускулатура, глаза	Бентосные сообщества

## Продолжение Таблицы 2

Полянский, 1955	<i>Gymnocanthus tricuspis</i> (Reinhardt, 1830) <i>M. scorpius</i>	Teleostei: Perciformes: Cottidae	Плавники	Бентосные сообщества
Жуков, 1963	<i>Gadus macrocephalus</i> Tilesius, 1810 <i>Hemilepidotus papilio</i> (Bean, 1880) <i>Hexagrammos stelleri</i> Tilesius, 1810 <i>Megalocottus platycephalus</i> (Pallas, 1814) <i>Myoxocephalus polyacanthocephalus</i> (Pallas, 1814) <i>Myoxocephalus scorpioides</i> (Fabricius, 1780) <i>M. scorpius</i> <i>Podothecus accipenserinus</i> (Tilesius, 1813) <i>Liparis gibbus</i> Bean, 1881	Teleostei: Gadiformes: Gadidae  Teleostei: Perciformes: Cottidae  Teleostei: Perciformes: Hexagrammidae  Teleostei: Perciformes: Cottidae   Teleostei: Perciformes: Agonidae  Teleostei: Perciformes: Liparidae	Жабры и плавники	Бентосные сообщества
Чубрик, 1966	<i>Astarte crenata</i> (J. E. Gray, 1824)	Bivalvia: Carditida: Astartidae	Стенка мантии	Бентосные сообщества
	<i>Cerastoderma edule</i> (Linnaeus, 1758)	Bivalvia: Cardiida: Cardiidae	Жабры	

Говоря о жизненных циклах акантокольпид, нельзя обойти вниманием известные для этой группы факультативные и облигатные случаи сокращения путей циркуляции. Так, С.Ф. Марасаев (1984) отмечал присутствие инцистированных метацеркарий *Neophasis* sp. в тканях гастроподы *N. borealis*, зараженной редиями и церкариями этого вида. Кроме того, описан случай прогенеза у метацеркарий *N. oculata*: В.А. Догель и А. Розова (1941) упоминают о наличии яиц в матке одной из личинок этого вида, инцистированной в тканях четырехрогого керчака. То есть для акантокольпид, или как минимум видов рода *Neophasis*, потенциально возможна диксенная реализация жизненного цикла без участия либо второго промежуточного, либо окончательного хозяина. Однако среди Acanthocolpidae известен и жизненный цикл, который облигатно реализуется с участием только двух хозяев. Это жизненный цикл *N. anarrhichae* (Nicoll, 1909) Bray, 1987, впервые описанный М. Лебур ещё в начале XX века (Lebour, 1910; Чубрик, 1966; Køie, 1969, 1973). Его первым и единственным промежуточным хозяином является обыкновенный букцидум *Buccinum undatum* Linnaeus, 1758. Церкарии *N. anarrhichae* не выходят во внешнюю среду, а без инцистирования превращаются в инвазионных метацеркарий, все еще находясь в зародышевой полости дочерних редий. В качестве окончательного хозяина *N. anarrhichae* использует исключительно зубаток рода *Anarrhichas* Linnaeus, 1758 (Bray, Gibson, 1991). По-видимому, жизненный цикл этого вида возник в результате сокращения путей циркуляции: из него выпал второй промежуточный хозяин, роль которого взял на себя первый промежуточный хозяин — моллюск. Такие вторично диксенные жизненные циклы характерны для целого ряда трематод, и в качестве самых ярких примеров стоит упомянуть все изученные в этом отношении виды семейств Leucochloridiidae и Eucotylidae, а также отдельных представителей семейств Microphallidae и Monorchiiidae (Bakke, 1980; Bartoli et al., 2000; Galaktionov et al., 2012; Assis, Pinto, 2023).

Следует отметить, что Е.В. Жуков (1960) иначе трактовал жизненный цикл *N. anarrhichae*. Он в принципе отрицал самостоятельность данного вида и считал его синонимичным виду *N. oculata*. Согласно его представлениям, в норме жизненный цикл *N. oculata* реализуется с участием второго промежуточного хозяина — морских рыб, которых заражают выходящие во внешнюю среду церкарии. Однако в случае поедания первого промежуточного хозяина (моллюска) зубатками, часть личинок оказываются способными завершить свое развитие в этих рыбах и приступить к яйцепродукции, в результате чего жизненный цикл реализуется по укороченной схеме. Стоит сказать, что для трематод действительно могут быть характерны жизненные циклы, реализующиеся по факультативно диксенному сценарию. Церкарии у таких видов выходят во внешнюю среду и заражают второго промежуточного хозяина, однако часть личинок при этом способна становиться инвазионными для окончательного хозяина метацеркариями не покидая зараженного партенитами моллюска.

Подобные циклы встречаются, например, у отдельных представителей Himasthliidae (Werding, 1969), Rencolidae (Galaktionov et al., 2023) и Zoogonidae (Gilardoni et al., 2020; Kremnev et al., 2023). Примечательно, однако, что во всех этих случаях метацеркарии инцистируются как в первом, так и во втором промежуточном хозяевах. Напротив, у *N. anarrhichae* метацеркарии никогда не инцистируются в букцинуме, а у *N. oculata* в рыбах и двустворчатых моллюсках метацеркарии всегда инцистированные (Lebour, 1910; Догель, Розова, 1941; Чубрик, 1966). С трактовкой, предложенной Е.В. Жуковым, была категорически не согласна Г.К. Чубрик (1956). В своей работе она показала, что *N. oculata* использует другой вид первого промежуточного хозяина — брюхоного моллюска *C. affinis* — чем и отличается от вида *N. anarrhichae*, партеногенетические поколения которого развиваются в обыкновенном букцинуме (Чубрик, 1956, 1966).

### 1.3 Партеногенетические поколения трематод семейства Acanthocolpidae

Анатомические признаки марит, такие как достаточно короткая матка, интенсивное развитие желточников и крупные желточные клетки (Bray, 2008) свидетельствуют, что яйца акантокольпид, по-видимому, покидают материнский организм на ранних этапах своего развития. Это теоретическое представление подтверждается фактическими наблюдениями Т. Однера, который писал, что дробление зиготы у *Neophasis oculata* начинается только после откладывания яйца (Odhner, 1905). Завершение эмбрио- и морфогенеза мирацидия в таком случае должно происходить во внешней среде, как это имеет место у некоторых трематод из семейств Echinostomatidae, Fasciolidae и Strigeidae (Гинецинская, 1968; Галактионов, Добровольский, 1987).

В имеющейся литературе отсутствуют какие-либо сведения о строении или поведении мирацидиев акантокольпид. Более того, мы даже не знаем, какую из двух стратегий — активную или пассивную — используют Acanthocolpidae для заражения первого промежуточного хозяина (о стратегиях мирацидиев см. Семенов, 1991; Smirnov, Gonchar, 2022). Исходя из относительно небольших размеров яиц, некоторые авторы предполагают, что мирацидии акантокольпид вылупляются не во внешней среде, а только после попадания в моллюска, то есть придерживаются стратегии пассивного заражения (П.А. Смирнов, личное сообщение).

Среди акантокольпид, материнская спороциста была описана только для *N. anarrhichae*. Мариана Койе (Køie, 1971) обнаружила ее на серийных гистологических срезах через зараженную редиями этого вида гастроподу *B. undatum*. Согласно ее наблюдениям, материнская спороциста *N. anarrhichae* локализуется под эпителием в основании сифона моллюска и представляет собой небольшой округлый организм, зародышевая полость которого заполнена

примерно сотней маленьких редий, которых она, предположительно, последовательно отрождает в течение своей жизни.

Дочерние партеногенетические поколения акантокольпид представлены редиями, паразитирующими в гепатопанкреасе моллюска, реже заселяющими также и гонаду хозяина (Lebour, 1910, 1911; Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Cable, 1956, 1963; Holliman, 1961; Чубрик, 1966; Марасаев, 1984; Shimura, 1984; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008, 2010). Как и у многих других трематод, дочерние партениты акантокольпид оказывают угнетающее воздействие на своего хозяина, проявляющееся в паразитарной кастрации (разрушении гонады), а также атрофии пениса у самцов моллюсков (Lebour, 1911; Køie, 1969; Shimura, 1984; Tétreault et al., 2000).

Редии *Acanthocolpidae* — это крупные (до нескольких миллиметров длиной), мешковидные, малоподвижные или неподвижные черви, часто обладающие слегка заостренным задним концом тела. Для всех них характерен следующий набор морфологических признаков: отсутствие локомоторных выростов, хорошо выраженная глотка и мешковидная слепозамкнутая кишка, короткая относительно размеров тела червя (Lebour, 1910, 1911; Miller, Northup, 1926; Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Cable, 1956, 1963; Holliman, 1961; Чубрик, 1966; Køie, 1978; Марасаев, 1984; Shimura, 1984; Madhavi, Shameem, 1993; Gnana Mani, 1994; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008, 2010). Кроме того, для редий трех видов было показано наличие родильной поры, расположенной в передней части тела (Stunkard, 1961; Køie, 1978; Bartoli, Gibson, 1998). Практически во всех описанных случаях зародышевая полость редий заполнена только развивающимися особями гермафродитного поколения. Единственное известное исключение — редии *Neophasis* sp., описанные С.Ф. Марасаевым (1984), в зародышевой полости которых, наряду с эмбрионами церкарий, могут быть обнаружены формирующиеся редии следующего поколения. Все это позволяет нам заключить, что такие редии, по аналогии с другими трематодами, могут быть обозначены дочерними и что их способность к воспроизводству себе подобных сильно ограничена (Добровольский и др., 1983).

Некоторые авторы указывают, что в зараженных акантокольпидами моллюсках можно обнаружить еще один тип редий, разительно отличающихся от дочерних редий по своему строению, поведению, локализации в хозяине и содержимому зародышевой полости (Lebour, 1910; Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Stunkard, 1961; Чубрик, 1966; Køie, 1971; Марасаев, 1984). Это небольшие, подвижные черви (лишенные, однако, локомоторных выростов), имеющие достаточно крупную относительно размеров тела слепозамкнутую кишку. Их небольшая по объему зародышевая полость заполнена генеративными клетками или эмбрионами редий следующего поколения, и никогда не содержит развивающихся церкарий. Локализуются такие редии в гемоцеле разных участков внутренностного мешка хозяина, откуда в дальнейшем, по видимому, мигрируют в сторону гепатопанкреаса и гонады (Stunkard, 1961; Køie, 1971). Такие

редии, по аналогии с другими трематодами, могут быть обозначены как материнские (Добровольский и др., 1983).

Наиболее подробное описание строения редий *Acanthocolpidae*, с применением гистохимических методов, а также методов сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии, было выполнено М. Койе для вида *N. anarrhichae* (Койе, 1971). Среди прочего она показала, что поглощение питательных веществ и мелкие (материнские), и крупные (дочерние) редии осуществляют как за счет кишечного эпителия, так и с помощью наружной пластинки тегумента. На это указывает наличие щелочной фосфатазы в кишечнике и покровах, а также увеличение площади поверхности этих органов, достигаемое за счет интенсивного развития микровиллярных выростов. В пользу активного транспорта веществ через покровы редий дополнительно свидетельствует наличие большого количества митохондрий в наружной пластинке тегумента, инвагинаций в ее базальной части, а также многочисленные пиноцитозные пузырьки. Кроме того, М. Койе показала, что окружающие редий ткани моллюска разрушаются под действием пищеварительных ферментов, секретлируемых покровами партенит, в результате чего паразиты оказываются как бы окружены раствором, богатым питательными веществами, которые они впоследствии и поглощают.

Завершая раздел, следует сказать, что акантокольпиды обладают вполне типичными для редиоидных трематод партеногенетическими поколениями. В зараженных акантокольпидами моллюсках материнская спороциста отрождает материнских редий, которые производят редий следующей генерации, также способных к самовоспроизводству. На протяжении этого этапа происходит обыкновенное для редиоидных трематод постепенное наращивание численности микрогемипопуляции в хозяине (Гранович, 1996; Галактионов и др., 2012). Впоследствии материнские редии, вероятно, мигрируют в сторону гепатопанкреаса и гонады хозяина, где, по-видимому, переключаются на производство дочерних редий, в зародышевой полости которых развиваются личинки гермафродитного поколения. Способность дочерних редий к самовоспроизводству, судя по всему, сильно ограничена. По своему строению и особенностям биологии, таким как неподвижность, короткий кишечник, поглощение питательных веществ за счет покровов и т.д., дочерние редии акантокольпид сходны с таковыми у других редиоидных трематод, например, с представителями семейства *Philophthalmidae* или надсемейства *Opisthorchioidea* (Добровольский и др., 1983).

#### 1.4 Строение церкарий трематод семейства *Acanthocolpidae*

Строение церкарий было описано для 21-го вида *Acanthocolpidae* (Lebour, 1910, 1911; Miller, Northup, 1926; Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Cable, 1956, 1963; Holliman, 1961; Stunkard,

1961; Чубрик, 1966; Køie, 1978; Марасаев, 1984; Shimura, 1984; Madhavi, Shameem, 1993; Gnana Mani, 1994; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008, 2010; Barnett, Miller, 2018; Krupenko et al., 2023). Для 12-ти из них принадлежность обнаруженных редий и церкарий к этому семейству трематод была доказана с помощью экспериментальных заражений или молекулярно-генетических методов. В основном это виды рода *Stephanostomum*, а также по одному виду из родов *Pleorchis* и *Tormopsolus* (Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Stunkard, 1961; Køie, 1978; Madhavi, Shameem, 1993; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2010; Barnett, Miller, 2018; Krupenko et al., 2023). Церкарий *Neophasis oculata* и *N. anarrhichae* отнесли роду *Neophasis* только на основании сходства обнаруженных личинок и марит (Lebour, 1910; Чубрик, 1966). Церкария *Neophasis* sp. была отнесена к этому роду трематод также исключительно на основании морфологического сходства этой личинки и церкарий *N. oculata* и *N. anarrhichae* (Марасаев, 1984). Принадлежность семейству Acanthocolpidae оставшихся личинок — *Cercaria caribbea* XXXIV, LXXII, LXXIII, *Cercaria portrosacculus*, *Cercaria itoi* и *Cercaria bengalensis* VII — не может считаться строго доказанной до появления молекулярно-генетических или экспериментальных данных.

Церкарии акантокольпид характеризуются удивительным морфологическим разнообразием. В этом разделе мы последовательно разберем особенности их внешнего и внутреннего строения, после чего обобщим имеющийся фактический материал. Прежде чем перейти непосредственно к обзору, отметим, что для церкарий ряда видов акантокольпид имеющиеся в литературе описания либо весьма скудные, как в случае с *N. oculata* (Чубрик, 1966), либо противоречивые, что особенно характерно для *N. anarrhichae* (Lebour, 1910, 1911; Чубрик, 1966; Køie, 1973).

Размеры церкарий достаточно сильно разнятся. Среди акантокольпид имеются весьма крупные личинки, максимальная длина тела которых варьирует в пределах от 400 до 978 мкм. К ним относятся церкарии *Neophasis anarrhichae*, *Stephanostomum baccatum*, *Cercaria caribbea* XXXIV, LXXII, LXXIII, *Cercaria itoi*, *S. cloacum*, *Tormopsolus* sp. и *Cercaria capricornia* групп 1-3 (Lebour, 1910, 1911; Wolfgang, 1955; Cable, 1956, 1963; Shimura, 1984; Madhavi, Shameem, 1993; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008). Большинство личинок оставшихся видов характеризуется средними размерами тела, с максимальной длиной в диапазоне между 200 и 400 мкм. Это церкарии *Stephanostomum tenue*, *Cercaria portrosacculus*, *Neophasis anarrhichae*, *N. oculata*, *Neophasis* sp., *S. caducum* и *Cercaria capricornia* VII-VIII (Martin, 1939; Holliman, 1961; Чубрик, 1966; Марасаев, 1984; Køie, 1978; Barnett et al., 2010). Наконец, личинки оставшихся двух видов — *Stephanostomum dentatum* и *Cercaria bengalensis* VII — характеризуются мелкими размерами, максимальная длина их тела не превышает 200 мкм (Miller, Northup, 1926; Stunkard, 1961; Gnana Mani, 1994). Обратим внимание читателя, что для церкарий *N. anarrhichae* разными

авторами указываются разные размеры тела личинок, различающиеся более чем в два раза (Lebour, 1910, 1911; Чубрик, 1966).

Форма тела церкарий Acanthocolpidae также достаточно разнообразна. Для личинок ряда видов — *Cercaria neptuneae*, *Cercaria portrosacculus*, *Cercaria caribbea* XXXIV, *Cercaria itoi*, *Tormopsolus* sp. и *Cercaria capricornia* групп 1-3 — характерен расширенный (иногда очень сильно) постацетабулярный отдел тела, а сама форма тела может быть описана как бутылковидная, грушевидная или листовидная (Lebour, 1911; Cable, 1956; Holliman, 1961; Shimura, 1984; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008; Barnett, Miller, 2018). Туловище этих церкарий зачастую уплощено в дорзо-вентральном направлении (Shimura, 1984; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008), а в случае личинок *Cercaria capricornia* групп 1-3 их пре- и постацетабулярный отделы тела разделены заметной перетяжкой (Barnett et al., 2008; Barnett, Miller, 2018). У церкарий практически всех оставшихся видов акантокольпид ширина тела в пре- и постацетабулярном отделах сопоставима, а его форма может быть охарактеризована как овальная. К таким личинкам относятся церкарии *Cercaria bengalensis* VII, *Cercaria capricornia* VII и VIII, виды родов *Stephanostomum* и *Neophasis* (Lebour, 1910; Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Stunkard, 1961; Чубрик, 1966; Марасаев, 1984; Køie, 1978; Madhavi, Shameem, 1993; Gnana Mani, 1994; Barnett et al., 2010). Некий промежуточный вариант наблюдается у церкарий *Cercaria caribbea* LXXII и LXXIII, тело которых характеризуется овальной формой, но кроме этого снабжено хорошо выраженной перетяжкой на границе его пре- и постацетабулярного отделов (Cable, 1963). Стоит также упомянуть удивительные модификации постацетабулярного отдела тела, характерные для личинок *Cercaria capricornia* групп 1-3 (Barnett et al., 2008; Barnett, Miller, 2018). У церкарий групп 1 и 2 вентральная сторона тела несет уплощенный с боков вырост — киль, а у личинок групп 2 и 3 от дорзальной части постацетабулярного отдела тела отходит пара нитевидных или уплощенных/весловидных выростов, обладающих, к тому же, способностью к растяжению и сокращению.

Хвосты церкарий акантокольпид характеризуются, пожалуй, не меньшим разнообразием строения, которое можно свести к четырем типам. Для подавляющего большинства личинок (включая не покидающих первого промежуточного хозяина *N. anarrhichae*) характерен простой хвост, длина которого либо сопоставима, либо превышает длину тела (Lebour, 1910, 1911; Wolfgang, 1955; Чубрик, 1966; Марасаев, 1984; Madhavi, Shameem, 1993; Shimura, 1984; Gnana Mani, 1994; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2010). Второй тип строения характерен для церкарий *Stephanostomum tenue*, *S. baccatum* и *S. caducum*: у них хвост своим дистальным концом может прикрепляться к субстрату (Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Køie, 1978). Из всех них, только для личинок *S. caducum* описано впячивание на конце хвоста, где открываются протоки специализированных железистых клеток (Køie, 1978). Третий тип строения хвоста характерен



для церкарий *S. dentatum*: они обладают лофоцеркным хвостом, латеральные участки которого по всей длине снабжены плавниковой мембраной, образующей многочисленные складки (Miller, Northup, 1926; Stunkard, 1961). Спинной и брюшной участки задней четверти хвоста также несут плавниковую мембрану. Наконец, в высшей степени удивительным хвостом, снабженным «хвостовой бульбой» (“caudal bulb or sac”, Cable, 1963, p. 462), обладают личинки *Cercaria portrosacculus*, *Cercaria caribbea* XXXIV, LXXII и LXXIII (Cable, 1956, 1963; Holliman, 1961). У этих церкарий дорзальная часть основания хвоста сильно увеличена в размерах и обладает шаровидной формой. В случае *Cercaria portrosacculus* хвостовая бульба частично закрывает спинную поверхность тела и хвоста личинки наподобие щита (Holliman, 1961), а у *Cercaria caribbea* XXXIV (Cable, 1956, 1963) на хвостовой бульбе расположен крупный вырост. Пространство внутри хвостовой бульбы заполнено крупными вакуолизированными клетками паренхимы (Cable, 1956, 1963; Holliman, 1961).

Для всех церкарий акантоколюпид характерно наличие хорошо развитых ротовой и брюшной присосок. У подавляющего большинства видов размер присосок практически одинаковый, и только у *Tormopsolus* sp., *Cercaria itoi* и *Cercaria capricornia* групп 1-3 брюшная присоска несколько крупнее ротовой (Shimura, 1984; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008; Barnett, Miller, 2018).

Присоски многих церкарий снабжены шипами, причем характер вооружения у разных видов несколько различается. Для всех церкарий рода *Stephanostomum* характерно наличие двух рядов крупных циркуморальных шипов, расположенных вокруг отверстия ротовой присоски в шахматном порядке, и невооруженная брюшная присоска (Miller, Northup, 1926; Martin, 1939; Stunkard, 1961; Kōie, 1978; Madhavi, Shameem, 1993). Исключение составляет только церкария *S. baccatum*, обе присоски которой не вооружены (Wolfgang, 1955). Сходная картина характерна для *Cercaria capricornia* VII и VIII, родственных видам рода *Stephanostomum*: отверстие ротовой присоски у них окружено одним рядом шипов, а брюшная присоска не вооружена (Barnett et al., 2010). Иной характер вооружения наблюдается у *Cercaria caribbea* XXXIV, *Cercaria itoi* и *Tormopsolus* sp. Ротовая присоска этих церкарий вооружена мелкими шипами, а отверстие брюшной присоски окружено одним или несколькими рядами крупных шипов (Cable, 1956; Shimura, 1984; Bartoli, Gibson, 1998). Еще один вариант вооружения характерен для *Cercaria caribbea* LXXII и LXXIII, а также *Cercaria capricornia* групп 1-3 (Cable, 1963; Barnett et al., 2008). У этих личинок края и ротовой, и брюшной присосок снабжены одним или несколькими рядами крупных шипов. Кроме того, у *Cercaria capricornia* групп 2 и 3 несколькими рядами шипов дополнительно усажена полость ацетабулюма. Во всех оставшихся работах авторы не приводят сведений о вооружении присосок церкарий (Lebour, 1910, 1911; Holliman, 1961; Чубрик, 1966;

Марасаев, 1984; Gnana Mani, 1994), однако заключить, отсутствует оно или не было выявлено, не представляется возможным.

За исключением *Cercaria neptunae* (Lebour, 1911), тегумент тела акантокольпидных церкарий вооружен шипами конической формы. Особняком стоят церкарии *N. anarrhichae*, уплощенные шипы которых обладают зубчатой формой (Køie, 1973). Примечательно, что такое строение шипов тегумента характерно скорее для метацеркарий и марит трематод (Køie, 1977; Saville et al., 1997). У церкарий шипы, если присутствуют, обычно обладают конической формой (Køie, 1977, 1978).

Имеющиеся в литературе описания расположения шипов тегумента церкарий Acanthocolpidae не однородны. Согласно одним публикациям, тело личинок равномерно покрыто шипами, размер которых уменьшается при продвижении в сторону задней части тела (Lebour, 1910; Miller, Northup, 1926; Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Stunkard, 1961; Køie, 1978; Shimura, 1984; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2010), тогда как в других работах отмечается, что шипами вооружена только передняя часть тела церкарий (Holliman, 1961; Cable, 1956, 1963; Чубрик, 1966; Марасаев, 1984; Madhavi, Shameem, 1993; Barnett et al., 2008).

Наиболее подробное описание строения пищеварительной системы акантокольпидных церкарий приведено для личинок *Tormopsolus* sp., *Stephanostomum tenue*, *S. baccatum* и *N. anarrhichae*. Церкарии последнего вида, согласно описанию М. Лебур, снабжены длинным префаринксом, крупной глоткой, очень коротким пищеводом и двумя достаточно объемными ветвями кишечника, практически достигающими задней части тела личинки; просвет в ветвях кишечника, по-видимому, сформирован (Lebour, 1910, 1911). Примечательно, что в более позднем описании церкарии *N. anarrhichae*, выполненном Г.К. Чубрик (1966), из органов пищеварительной системы у личинки отмечена только глотка. Практически все составляющие элементы пищеварительной системы (за исключением пищевода) были обнаружены у церкарии рода *Tormopsolus*: длинный префаринкс, овальная глотка и зачатки ветвей кишечника, представленные двумя клеточными тяжами, тянущимися до задней границы мочевого пузыря (Bartoli, Gibson, 1998). Несколько иначе организована пищеварительная система церкарий *Stephanostomum tenue* и *S. baccatum*. Эти личинки обладают длинным префаринксом, овальной/грушевидной глоткой и коротким пищеводом, практически сразу разделяющимся на две короткие ветви кишечника. Последние не заходят дальше уровня передней трети/середины брюшной присоски (Martin, 1939; Wolfgang, 1955). Для всех остальных личинок авторы приводят менее детальное описание строения пищеварительной системы. В ряде работ отмечают наличие у церкарий длинного префаринкса, глотки, короткого пищевода и ветвей кишечника без указания их длины (Miller, Northup, 1926; Holliman, 1961; Cable, 1963; Shimura, 1984). Остальные авторы упоминают либо о наличии префаринкса, глотки и короткого пищевода (Stunkard, 1961; Køie,

1978; Марасаев, 1984), либо только префаринкса и глотки (Lebour, 1911; Madhavi, Shameem, 1993; Gnana Mani, 1994; Barnett et al., 2008, 2010), либо только глотки (Чубрик, 1966; Barnett et al., 2010) или же вовсе не приводят какой-либо информации о строении пищеварительной системы изученных личинок (Чубрик, 1966; Barnett et al., 2010).

Нервная система церкарий акантокольпид изучена весьма поверхностно. Наиболее подробная информация приведена в работе С.Ф. Марасаева (1984), применившего метод выявления ацетилхолинэстеразы для реконструкции нервной системы личинки *Neophasis* sp. Полученные им результаты в целом согласуются в том числе с современными представлениями об ортогональной организации нервной системы трематод (например, Tolstenkov et al., 2010, 2011; Denisova, Shchenkov, 2019). Для церкарии *Neophasis* sp. характерно наличие церебрального ганглия, состоящего из двух лопастей, соединенных комиссурой. В сторону передней части тела от него отходит 4 нервных тяжа, соединяющихся с опоясывающим ротовую присоску нервным кольцом. Назад от ганглия отходят шесть продольных нервных стволов: по одной паре дорзальных, вентральных и латеральных. Латеральные стволы самые толстые, и только они достигают границы тела и хвоста, где образуют небольшое сплетение. От последнего пара тонких тяжей тянется до кончика хвоста. Нервные стволы в теле церкарии *Neophasis* sp. соединены несколькими комиссурами. Во всех остальных описаниях церкарий акантокольпид авторы ограничиваются только упоминанием церебрального ганглия (Wolfgang, 1955; Holliman, 1961; Cable, 1963; Køie, 1978; Shimura, 1984; Bartoli, Gibson, 1998) либо не приводят информации об организации нервной системы (Lebour, 1910, 1911; Miller, Northup, 1926; Martin, 1939; Cable, 1956, 1963; Stunkard, 1961; Чубрик, 1966; Madhavi, Shameem, 1993; Gnana Mani, 1994; Barnett et al., 2008, 2010).

Во всех без исключения работах, посвященных описанию акантокольпидных церкарий, указано, что личинки этих трематод снабжены парой пигментированных фоторецепторов — глаз. Их размеры различаются у церкарий разных видов, а форма чаще всего бывает округлой или овальной, и только у *Cercaria caribbea* LXXIII глаза могут быть прямоугольными (Cable, 1963). У церкарий *Tormopsolus* sp. и двух видов рода *Stephanostomum* каждый глаз снабжен линзой (Miller, Northup, 1926; Køie, 1978; Bartoli, Gibson, 1998). Исходя из рисунка, можно полагать, что в составе каждого глаза *Cercaria itoi* имеется две линзы (Shimura, 1984). В глазах прочих акантокольпидных церкарий наличие светопреломляющих структур отмечено не было.

Мышечная система церкарий акантокольпид никогда не становилась предметом специального изучения. Известно, что личинки *Cercaria portrosacculus* и *Cercaria itoi* обладают парой или несколькими парами мощных, иногда ветвящихся пучков продольной мускулатуры, соединяющих пре- и постацетабулярный отделы тела церкарий (Holliman, 1961; Shimura, 1984).

Наличие специализированной мускулатуры, вероятно, необходимо для обеспечения характерной формы тела личинки во время ее движения или покоя (см. ниже).

Для всех без исключения церкарий акантокольпид характерно наличие желез проникновения. Единственный вид, у которого поначалу они не были описаны — это *N. anarrhichae* (Lebour, 1910). Однако в более поздних исследованиях железы проникновения выявили и у церкарий этого вида (Чубрик, 1966).

У подавляющего большинства церкарий акантокольпид железы проникновения собраны в две группы. Передняя расположена на уровне глотки, по бокам от неё. Задняя группа желез залегает впереди и по бокам от брюшной присоски либо позади неё. Такая организация пенетрационного аппарата характерна для церкарий *Cercaria neptunae*, *Stephanostomum tenue*, *Cercaria portosacculus*, *S. dentatum*, *Cercaria caribbea* LXXII, LXXIII, *S. caducum*, *Cercaria itoi*, *S. cloacum*, *Tormopsolus* sp., *Cercaria capricornia* VII-VIII и *Cercaria capricornia* групп 2 и 3 (Lebour, 1911; Miller, Northup, 1926; Martin, 1939; Holliman, 1961; Stunkard, 1961; Cable, 1963; Køie, 1978; Shimura, 1984; Madhavi, Shameem, 1993; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008, 2010). Чаще всего клетки желез передней группы обладают меньшими размерами, чем задней (Lebour, 1911; Miller, Northup, 1926; Holliman, 1961; Stunkard, 1961; Cable, 1963; Køie, 1978; Shimura, 1984; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008). Кроме того, клетки в составе задней группы желез церкарий могут быть лопастными (Holliman, 1961; Bartoli, Gibson, 1998). У церкарий *Stephanostomum cloacum* и *Cercaria capricornia* VII-VIII, напротив, железы передней группы по своим размерам превышают железы задней группы, а у личинки *Stephanostomum tenue* клетки желез обеих групп примерно одинакового размера (Martin, 1939; Madhavi, Shameem, 1993; Barnett et al., 2010).

В состав передней группы практически всегда входят две пары клеток. Задняя группа составлена чаще всего тремя парами клеток, реже она представлена двумя или четырьмя парами клеток (Lebour, 1911; Miller, Northup, 1926; Martin, 1939; Holliman, 1961; Stunkard, 1961; Madhavi, Shameem, 1993; Cable, 1963; Køie, 1978; Shimura, 1984; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008).

У церкарий остальных видов акантокольпид — *Stephanostomum baccatum*, *Cercaria caribbea* XXXIV, *Neophasis oculata*, *N. anarrhichae*, *Neophasis* sp., *Cercaria bengalensis* VII и *Cercaria capricornia* группы 1 — железы проникновения представлены единственной группой, в состав которой у разных видов входят шесть, восемь, девять, десять или 14 клеток, либо количество клеток не было подсчитано. Расположены они чаще всего в преацетабулярном отделе тела (Wolfgang, 1955; Cable, 1956; Чубрик, 1966; Марасаев, 1984), реже клеточные тела желез частично или полностью залегают позади брюшной присоски (Чубрик, 1966; Gnana Mani, 1994; Barnett et al., 2008).

Во всех случаях железы проникновения снабжены протоками, которые тянутся вперёд и открываются порами у переднего края ротовой присоски. При этом количество протоков и, соответственно, пор может быть меньшим, чем количество желез проникновения. Практически у всех церкарий часть протоков залегает медиально, между глазами, а оставшиеся расположены латеральнее глаз. Исключение составляют только личинки *Cercaria capricornia* группы 1 и *Stephanostomum baccatum*. В первом случае все протоки залегают латеральнее глаз, во втором случае — медиальнее (Martin, 1939; Barnett et al., 2008).

Помимо желез проникновения, личинки *Cercaria dipterocerca* снабжены еще тремя парами железистых клеток, которые были выявлены только на гистологических срезах (Miller, Northup, 1926; обозначены буквой “с” на рисунке 7). Эти железы расположены в преацетабулярном отделе тела церкарии, они лишены протоков, а их содержимое базофильно окрашивается. Функциональная нагрузка этих структур остается неясной. В более поздней работе, посвященной описанию личинки того же вида, подобные железистые клетки не были обнаружены (Stunkard, 1961).

Наряду с железами проникновения, в состав пенетрационного аппарата церкарий акантокольпид может входить стилет. Он был выявлен у нескольких видов рода *Stephanostomum* (*S. tenue*, *S. caducum*, *S. cloacum*) и *Cercaria bengalensis* VII (Martin, 1939; Køie, 1978; Madhavi, Shameem, 1993; Gnana Mani, 1994). Стилет у церкарий акантокольпид располагается в толще передней части ротовой присоски и обладает каплевидной или копьевидной формой. В последнем случае его передний конец снабжен двумя «плечами» — небольшими латеральными расширениями (Martin, 1939). Стилет у церкарий акантокольпид небольшой, его размер не превышает 14-ти мкм (Martin, 1939; Køie, 1978; Gnana Mani, 1994). Кроме того, он лишен наружного светопреломляющего слоя, характерного для очень многих стилетных церкарий (Галактионов, Добровольский, 1998), включая представителей семейств Rencolidae и Zoogonidae, также обладающих стилетом небольшого размера (Galaktionov et al., 2023; Kremnev et al., 2023). На наш взгляд, у большинства из перечисленных акантокольпидных церкарий наличие стилета нуждается в дополнительном подтверждении. Единственным убедительным свидетельством являются сканограммы М. Койе, на которых хорошо заметен кончик стилета, выглядывающий из толщи ротовой присоски церкарии *S. caducum* (Køie, 1978; рисунок 3В).

Некоторые авторы упоминают о наличии в теле акантокольпидных церкарий цистогенных желез. У церкарий *Stephanostomum tenue*, *S. dentatum*, *S. caducum* и *Cercaria bengalensis* VII цистогенными железами авторы обозначают скопления клеток в постацетабулярном отделе тела, преимущественно вокруг мочевого пузыря (Martin, 1939; Stunkard, 1961; Køie, 1978; Gnana Mani, 1994). Судя по всему, эти авторы приняли за цистогенные железы крупные цитоны, входящие в состав выстилки мочевого пузыря церкарий (см. ниже),

поскольку у трематод из других семейств (Echinostomatidae, Notocotylidae, Plagiorchiidae и др.) цистогенные железы церкарий равномерно распределены по телу личинки (Faltýnková et al., 2008; Gonchar, Galaktionov, 2017). Наличие иного типа цистогенных желез было показано для церкарий *Cercaria caribbea* XXXIV, LXXII, LXXIII, *Cercaria portrosacculus* и *Cercaria itoi*. У личинок перечисленных видов они представляют собой многочисленные прозрачные тельца овальной формы и очень небольшого размера, плотно уложенные в постацетабулярном отделе тела (Cable, 1956, 1963; Holliman, 1961; Shimura, 1984). Примечательно, что сами же авторы очень аккуратно проводят параллель между этими структурами и цистогенными железами прочих церкарий, подчеркивая характерный для них необычный внешний вид (Cable, 1956; Shimura, 1984). Более того, если обратить внимание на рисунки в фаунистических работах Р.М. Кэйбла и Р.Б. Холлимэна, то становится очевидно, что «цистогенные железы» *Cercaria caribbea* XXXIV, LXXII, LXXIII и *Cercaria portrosacculus* явно отличаются от цистогенных желез церкарий из других групп трематод (Cable, 1956; Holliman, 1961). В первом случае они очень мелкие и прозрачные, во втором — крупные и заполненные гранулами секрета, из-за чего на рисунках изображены темными. Все это заставляет нас полагать, что функциональная нагрузка этих телец в теле личинок *Cercaria caribbea* XXXIV, LXXII, LXXIII, *Cercaria portrosacculus* и *Cercaria itoi* может быть не связана с образованием цисты на стадии метацеркарии.

Примечательной особенностью церкарий некоторых акантоколюпид — *Cercaria caribbea* XXXIV, LXXII, LXXIII, *Tormopsolus* sp., *Cercaria capricornia* групп 1-3 — является наличие пигментации в теле и иногда в хвосте (Cable, 1956, 1963; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008). Цвет пигментных гранул достаточно разнообразен. Чаще всего он представлен различными вариациями желто-коричневого спектра (желто-оранжевый, оранжево-коричневый, коричнево-красный, золотисто-коричневый, оранжевый), реже гранулы обладают темным (голубовато-черным) цветом. Пигмент обычно расположен в постацетабулярном отделе тела. В единичных случаях он также имеется в передней части тела личинки, где залегает медиальнее глаз, в районе префаринкса (Barnett et al., 2008). Чаще всего пигмент собран в продольные тяжи, либо образует скопление вокруг переднего края мочевого пузыря. У *Cercaria capricornia* групп 1-3 дополнительно может быть пигментирован киль или латеральные выросты постацетабулярного отдела тела, а у личинок групп 1 и 2 пигмент также иногда сконцентрирован в виде двух или четырех крупных пятен, расположенных в задней части тела (Barnett et al., 2008; Barnett, Miller, 2018). Наличие пигмента в туловище или хвосте не является уникальным свойством церкарий акантоколюпид. Пигментация также характерна, например, для личинок семейства Vivesiculidae, крупных церкарий семейства Rencolidae, хвост которых снабжен плавниковой мембраной, а также зигоцеркных представителей Opisthorchiata (Rothschild, 1935; Cable, 1963; Rekhari, Madhavi, 1985; Beuret, Pearson, 1994; Galaktionov et al., 2023). Примечательно, что и внешний вид

этих церкарий (включая пигментацию), и поведение таких личинок служат для привлечения внимания следующего хозяина в жизненном цикле, роль которого выполняют рыбы. Таким образом, можно предполагать, что крупные пигментированные церкарии акантокольпид также подражают потенциальной добыче своих вторых промежуточных хозяев, хотя экспериментальных работ на эту тему практически не проводилось (см. ниже; Bartoli, Gibson, 1998).

Из всех систем органов акантокольпидных церкарий наиболее противоречивые описания, пожалуй, приведены для протонефридиальной системы. Это относится и к описаниям строения главных собирательных каналов, и к характеру связи протонефридиальной системы с хвостом личинки, и даже к экскреторной формуле. Все эти особенности организации протонефридиальной системы церкарий трематод традиционно рассматриваются в качестве важных таксономических признаков (La Rue, 1957; Cable, 1974; Галактионов, Добровольский, 1998).

Для трематод известно два принципиально разных варианта устройства главных собирательных каналов (Галактионов, Добровольский, 1998). В протонефридиальных системах «стеностомного» типа главные собирательные каналы, выйдя из мочевого пузыря, тянутся к передней части тела личинки, после чего поворачивают назад, образуя так называемую стеностомную петлю; дойдя обратно примерно до середины тела, они разделяются на переднюю и заднюю ветви. Классический пример выделительной системы такого типа можно наблюдать, например, у представителей подотряда Echinostomata (La Rue, 1957; Cable, 1974). В протонефридиальных системах «мезостомного» типа главные собирательные каналы разделяются на переднюю и заднюю ветви без образования стеностомной петли, однако у церкарий некоторых видов их проксимальные участки могут формировать клубок из плотно прилегающих друг к другу изгибов. Хрестоматийным примером, иллюстрирующим организацию протонефридиальной системы подобного типа, будут представители надсемейств Plagiorchioidea и Microphalloidea (La Rue, 1957; Cable, 1974).

Из обзорной статьи Р.А. Брея и Д.И. Гибсона следует, что среди акантокольпид можно найти оба варианта строения протонефридиальной системы и что главные собирательные каналы церкарий *Stephanostomum tenue*, *S. dendatum*, *S. caducum* организованы по «стеностомному» типу (Bray, Gibson, 1991). Мы категорически не согласны с подобной трактовкой. Дело в том, что согласно имеющимся рисункам и описаниям, у перечисленных церкарий рода *Stephanostomum*, а также личинок *Cercaria bengalensis* VII, главные собирательные каналы тянутся к передней части личинки, после чего поворачивают назад и уходят в сторону задней части тела без деления на переднюю и заднюю ветви (Martin, 1939; Stunkard, 1961; Køie, 1978; Gnana Mani, 1994). На всем протяжении к ним подходят капилляры, ведущие к терминальным клеткам — циртоцитам

(Martin, 1939; Stunkard, 1961; Køie, 1978). Подобное устройство главных собирательных каналов никак не может быть отнесено к протонефридиальной системе «стеностомного» типа. Мы предполагаем, что этими авторами была неправильно изображена протонефридиальная система «мезостомного» типа, поскольку именно такой вариант ее организации характерен для подавляющего большинства церкарий прочих видов акантокольпид: *Cercaria dipteroerca*, *Stephanostomum baccatum*, *S. cloacum*, *Cercaria caribbea* XXXIV и LXXII, *Cercaria portrosacculus*, *Cercaria itoi*, *N. oculata* и *Neophasis* sp. (Miller, Northup, 1926; Wolfgang, 1955; Cable, 1956, 1963; Holliman, 1961; Чубрик, 1966; Марасаев, 1984; Shimura, 1984; Madhavi, Shameem, 1993). У половины из перечисленных личинок главные собирательные каналы очень короткие и практически сразу разделяются на переднюю и заднюю ветви (Miller, Northup, 1926; Wolfgang, 1955; Чубрик, 1966; Марасаев, 1984). У церкарий оставшихся видов — *Cercaria caribbea* XXXIV и LXXII, *Cercaria portrosacculus*, *Cercaria itoi* и *Stephanostomum cloacum* — главные собирательные каналы очень длинные и разделяются в районе глотки или позади глаз на короткую переднюю и длинную заднюю ветви (Cable, 1956, 1963; Holliman, 1961; Shimura, 1984; Madhavi, Shameem, 1993). Для всех оставшихся личинок акантокольпид, в том числе *N. anarrhichae*, авторы не приводят сведений об организации каналов протонефридиальной системы в туловище церкарий (Lebour, 1910, 1911; Чубрик, 1966; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008, 2010).

Данные о связи протонефридиальной системы акантокольпидных церкарий с хвостом личинок далеки от единообразия. В нескольких работах утверждается, что от заднего конца мочевого пузыря в хвост развивающейся личинки отходит каудальный экскреторный канал, разделяющийся на две веточки, которые открываются наружу первичными экскреторными порами (Cable, 1956, 1963; Stunkard, 1961). При этом в хвосте сформированной церкарии, согласно этим авторам, отсутствуют какие-либо элементы протонефридиальной системы. Иная ситуация характерна для церкарий *Neophasis* sp., описанных С.Ф. Марасаевым (1984). У личинок этого вида каудальный экскреторный канал сохраняется в хвосте полностью сформированных особей. Аналогичным образом, по-видимому, устроена протонефридиальная система в хвосте полностью сформированных личинок *Cercaria portrosacculus*, хотя Р.Б. Холлимэн и не обнаружил деления каудального экскреторного канала на веточки, ведущие к первичным экскреторным порам (Holliman, 1961). Сведения о расположении протонефридиальной системы в хвостах церкарий *Stephanostomum baccatum*, *Neophasis oculata* и *Cercaria capricornia* VII-VIII представляются нам неправдоподобными (Wolfgang, 1955; Чубрик, 1966; Barnett et al., 2010). В первом случае у сформированной личинки мочевой пузырь продолжается в хвост каналом, тянущемся до его кончика, где он открывается единственной экскреторной порой (Wolfgang, 1955). Во втором и третьем случаях от мочевого пузыря в хвост отходит слепозамкнутый канал



(Чубрик, 1966; Barnett et al., 2010). Подобное устройство противоречит имеющимся в литературе обобщениям о принципиальном устройстве протонефридиальной системы трематод и эмбриональном развитии церкарий (Cable, 1974; Галактионов, Добровольский, 1998). Наконец, в описаниях остальных церкарий акантокольпид авторы либо не приводят сведений о наличии элементов протонефридиальной системы в хвосте полностью сформированных личинок (Lebour, 1910, 1911; Miller, Northup, 1926; Martin, 1939; Чубрик, 1966; Shimura, 1984; Madhavi, Shameem, 1993; Gnana Mani, 1994; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008, 2010), либо эксплицитно пишут об их отсутствии (Køie, 1978).

Казалось бы, некоторую ясность во все перечисленные вопросы могла бы внести работа Л.И. Петерса (Peters, 1961), где специально было изучено развитие протонефридиальной системы церкарий нескольких видов трематод, в том числе *Stephanostomum tenue*, представителя семейства Acanthocolpidae. Согласно его результатам, у развивающейся церкарии этого вида мочевой пузырь продолжается в хвост каудальным экскреторным каналом, разделяющимся на две веточки. Однако из текста работы остается неясным судьба этого канала в хвосте полностью сформированной личинки. Протонефридиальную систему Л.И. Петерс характеризует как «стеностомную», однако и на его рисунках не изображено деление главных собирательных каналов на переднюю и заднюю ветви.

Описания экскреторной формулы церкарий акантокольпид, то есть количества мерцательных клеток, также далеки от единообразия. Полная экскреторная формула была установлена только для четырех видов и выглядит следующим образом:  $2[3+3+3+3+3+3+3] = 42$  у *Stephanostomum tenue* (Martin, 1939);  $2[(3+4+4) + (4+4+4)] = 46$  у *Cercaria caribbea* XXXIV (Cable, 1956);  $2[(3) + (3+3)] = 18$  у *S. dentatum* (Stunkard, 1961);  $2[(3+3+3) + (3+3)] = 30$  у *Neophasis* sp. (Марасаев, 1984). Нетрудно заметить, что у перечисленных церкарий варьирует не только количество циртоцитов, но и число первичных групп мерцательных клеток. Более того, у церкарий *S. tenue* в состав протонефридиальной системы входит семь первичных групп мерцательных клеток, хотя считается, что их число у личинок трематод не превышает шести (Галактионов, Добровольский, 1998). Еще для нескольких видов церкарий акантокольпид было подсчитано общее количество обнаруженных циртоцитов. Оно составляет 16 клеток для *Cercaria dipteroerca* (Miller, Northup, 1926), 36 клеток для *Cercaria portrosacculus* (Holliman, 1961), 132 клетки для *Cercaria itoi* (Shimura, 1984), 24 клетки для *S. caducum* (Køie, 1978) и 20 клеток для *Cercaria bengalensis* VII (Gnana Mani, 1994). Экскреторная формула прочих церкарий акантокольпид неизвестна (Lebour, 1910, 1911; Cable, 1963; Madhavi, Shameem, 1993; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008, 2010).

Практически для всех церкарий акантокольпид характерен мочевой пузырь «толстостенного» типа, то есть такой вариант его организации, при котором крупные цитоны,

входящие в состав синцитиальной пластинки мочевого пузыря, сильно выдаются в окружающую паренхиму (Галактионов, Добровольский, 1998). Кроме того, цитоплазма цитонов мочевого пузыря у личинок *Stephanostomum tenue*, *S. baccatum*, *S. dendatum*, *Neophasis oculata*, *S. caducum*, *Neophasis* sp., *Cercaria itoi*, *S. cloacum*, *Cercaria bengalensis* VII, *Cercaria capricornia* VII-VIII и *Cercaria capricornia* групп 1-3 заполнена гранулами, по-видимому, секреторной природы (Miller, Northup, 1926; Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Stunkard, 1961; Чубрик, 1966; Кюе, 1978; Марасаев, 1984; Shimura, 1984; Madhavi, Shameem, 1993; Gnana Mani, 1994; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008, 2010). Поэтому неудивительно, что некоторые авторы приняли такие цитоны за цистогенные железы (см. выше; Martin, 1939; Stunkard, 1961; Кюе, 1978; Gnana Mani, 1994). Тем не менее, они, вероятно, правильно угадали функциональную нагрузку этих структур, поскольку известно, что у некоторых церкарий (например, видов семейства Microphallidae) в построении стенок цисты метацеркарии участвует, в том числе, секрет цитонов выстилки мочевого пузыря (Galaktionov et al., 1997). Мы предполагаем, что сходная ситуация характерна и для Acanthocolpidae. На фоне всех перечисленных личинок акантокольпид резко выделяются церкарии *N. anarrhichae*, обладающие, согласно всем имеющимся описаниям, «тонкостенным» мочевым пузырем (Lebour, 1910, 1911; Чубрик, 1966).

Форма мочевого пузыря личинок акантокольпид, в целом, достаточно единообразна. У церкарий целого ряда видов он вытянут в продольном направлении и обладает I-образной формой, иногда с несколько расширенным передним концом, что характерно для *Cercaria caribbea* XXXIV, LXXII, LXXIII, *Cercaria portosacculus*, *Cercaria itoi*, *Stephanostomum cloacum*, *Tormopsolus* sp. и *Cercaria capricornia* групп 1-3 (Cable, 1956, 1963; Holliman, 1961; Shimura, 1984; Madhavi, Shameem, 1993; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008). Форма мочевого пузыря прочих церкарий может быть описана как овальная, овально-яйцевидная, реже треугольная (Lebour, 1910, 1911; Miller, Northup, 1926; Wolfgang, 1955; Stunkard, 1961; Чубрик, 1966; Кюе, 1978; Марасаев, 1984; Gnana Mani, 1994). Особняком стоят церкарии *Stephanostomum tenue* и *Cercaria capricornia* VII-VIII, обладающие мочевым пузырем Y-образной формы (Martin, 1939; Barnett et al., 2010). Мы склонны считать, что на самом деле и для этих личинок характерен I-образный/овальный мочевой пузырь, а форму буквы “Y” он принимает в результате вздутия проксимальных участков главных собирательных каналов.

Имеющиеся в литературе описания зачатка половой системы церкарий акантокольпид крайне поверхностные. В случае личинок *Cercaria dipteroerca*, *Stephanostomum tenue*, *S. dendatum*, *S. caducum*, *S. cloacum*, *Neophasis* sp. и *Cercaria bengalensis* VII он представлен однородной группой клеток, в которой невозможно различить какие-либо зачатки будущих органов половой системы (Miller, Northup, 1926; Martin, 1939; Stunkard, 1961; Кюе, 1978; Марасаев, 1984; Madhavi, Shameem, 1993; Gnana Mani, 1994). Форма зачатка половой системы

чаще всего бобовидная, реже двулопастная (Miller, Northup, 1926) или ещё более сложная (Martin, 1939; Køie, 1978). Несколько иначе устроен зачаток половой системы церкарий *Cercaria itoi*: он представляет собой продольный тяж, тянущийся от передней части мочевого пузыря в сторону переднего конца тела, однако в его составе также не удастся различить зачатки будущих органов половой системы (Shimura, 1984). По-видимому, сходным образом устроен зачаток половой системы церкарий *Tormopsolus* sp. и *Cercaria capricornia* групп 1-3, поскольку в их теле также имеется продольный тяж, берущий свое начало в районе передней части мочевого пузыря (Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008).

Более дифференцированным зачатком половой системы обладают церкарии *Stephanostomum baccatum* и *Neophasis anarrhichae*. Согласно результатам М. Лебур (Lebour, 1910, 1911) и Г.К. Чубрик (1966), зачаток половой системы церкарий *N. anarrhichae* представлен зачатками гонад — семенников и яичника. Исходя из приведенного Р.В. Вольфгангом рисунка можно заключить, что зачаток половой системы личинки *S. baccatum* обладает достаточно сложным строением и состоит из нескольких петель и округлых элементов, представляющих собой, по-видимому, зачатки протоков и гонад (Wolfgang, 1955). Организация зачатка половой системы прочих церкарий акантокольпид не была описана (Lebour, 1911; Cable, 1956, 1963; Holliman, 1961; Barnett et al., 2010).

Стоит также отметить, что у некоторых видов акантокольпид церкарии покидают зародышевую полость редий на ранних этапах своего развития, а их морфогенез завершается в окружающих тканях гепатопанкреаса моллюска-хозяина. Это характерно для *Stephanostomum baccatum*, *Neophasis oculata*, *Neophasis* sp., *Cercaria itoi*, *Tormopsolus* sp., и, возможно, *S. caducum* (Wolfgang, 1955; Чубрик, 1966; Køie, 1978; Марасаев, 1984; Shimura, 1984; Bartoli, Gibson, 1998). Трудно сказать, имеется ли сходный этап в развитии церкарий прочих видов акантокольпид, поскольку авторы не приводят таких сведений. Однако нельзя исключать, что эта особенность морфогенеза личинок может быть характерна для всех Acanthocolpidae. Завершение развития церкарий в гепатопанкреасе хозяина характерно и для других трематод, например, для видов семейств Notocotylidae и Opisthorchiidae (Stunkard, 1930; Gonchar, Galaktionov, 2016).

Завершая раздел, стоит отдельно рассмотреть недавно описанных церкарий *Pleorchis* sp. Okw1 (Krupenko et al., 2023). Это зигоцеркрые личинки, образующие агрегацию, переплетаясь своими хвостами. Необычно, что эта агрегация включала два типа разных по морфологии церкарий. В ее составе имелось порядка 1000 мелких личинок, названных авторами «церкариями-пассажирами», и около 20 более крупных личинок, обозначенных «церкариями-матросами». Более многочисленные личинки первого типа обладают длинным (чуть более 500 мкм) простым хвостом; 12-ю железами проникновения, собранными в две группы; 12 протоками желез, шесть из которых залегают в теле медиально, оставшиеся — латерально; сетью разбросанных по

паренхиме тела и основанию хвоста пигментными гранулами коричневого цвета. В противовес им, «церкарии-матросы» снабжены огромным хвостом, длиной более 2 мм. Последний, к тому же, несет крупные латеральные складки — плавниковую мембрану, а в его дистальной части имеется пигмент желтого цвета. Кроме того, эти личинки обладают парой крупных пигментированных глаз, однако в отличие от «церкарий-пассажиры», они лишены желез проникновения.

Выполненный авторами молекулярно-генетический анализ показал, что настолько различающиеся по своему строению церкарии, составляющие эту удивительную агрегацию, относятся к одному и тому же виду (Krupenko et al., 2023). Более того, выяснилось, что они принадлежат трематодам из Acanthocolpidae клады А и, вероятнее всего, являются представителями рода *Pleorchis*.

Подобные агрегации из зигоцеркных личинок, также называемые пакетами или “rattenkönig” («крысиным королем»), известны для целого ряда таксонов трематод. Они были описаны у отдельных представителей Cryptogonimidae, Diplostomoidea, Echinochasmidae, Heterophyidae, Psilostomidae и Rencolidae (Martin, Gregory, 1951; Cable, 1963; Martin, 1968; Hendrickson, Kingston, 1974; Beuret, Pearson, 1994; Галактионов, Добровольский, 1998). Однако во всех этих случаях, в отличие от *Pleorchis* sp. Okw1, агрегации сформированы морфологически единообразными личинками.

Примечательно, что по своему строению «церкарии-матросы» *Pleorchis* sp. Okw1 напоминают личинок *Stephanostomum dentatum* (Stunkard, 1961). В обоих случаях мы наблюдаем церкарий небольшого размера (длина их тела не превышает 150 мкм), снабженных лофоцеркным хвостом и пигментированными глазами. Однако церкарии *S. dentatum*, в отличие от «церкарий-матросов» *Pleorchis* sp. Okw1, обладают железами проникновения, кроме того, их хвост значительно короче. В свою очередь, «церкарии-пассажиры» *Pleorchis* sp. Okw1 не похожи ни на одну из описанных на текущий момент личинок акантокольпид, в первую очередь из-за отсутствия пигментированных глаз.

### 1.5 Поведение церкарий трематод семейства Acanthocolpidae

Поведение церкарий акантокольпид никогда не становилось предметом детального самостоятельного изучения, однако из имеющихся в литературе работ можно составить некоторые представления об особенностях биологии личинок этих трематод.

Для очень многих церкарий Acanthocolpidae было отмечено наличие реакции на свет. Из всех них только личинки *Stephanostomum dentatum* обладают отрицательной фотореакцией (Stunkard, 1961), в то время как для личинок *S. tenue*, *Cercaria caribbea* XXXIV, LXXII, LXXIII,

*Cercaria portosacculus*, *Cercaria itoi*, *Cercaria bengalensis* VII, *Tormopsolus* sp., *Cercaria capricornia* групп 1-3 и *Cercaria capricornia* VII-VIII характерна положительная фотореакция (Martin, 1939; Cable, 1956, 1963; Holliman, 1961; Shimura, 1984; Gnana Mani, 1994; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008, 2010). Слабой положительной реакцией на свет также обладают церкарии *S. caducum* (Køie, 1978), а у церкарий *S. baccatum* свет стимулирует повышение двигательной активности (Wolfgang, 1955). Поведенческие реакции церкарий акантокольпид, связанные с прочими абиотическими и биотическими факторами, никогда не изучались.

Эмиссия церкарий акантокольпид может происходить в разные временные промежутки. У нескольких видов церкарии выходят из зараженных моллюсков в ночное время суток. Это характерно для личинок *Cercaria portosacculus*, *Cercaria capricornia* групп 1 и 2 и *Cercaria capricornia* VII-VIII (Holliman, 1961; Barnett et al., 2008, 2010). Эмиссия церкарий *Tormopsolus* sp. происходит через четыре-пять часов после восхода солнца (Bartoli, Gibson, 1998). Выходят личинки акантокольпид из зараженного моллюска обычно не поодиночке, а сразу в большом количестве (Cable, 1963; Gnana Mani, 1994; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008, 2010), хотя из этого правила бывают исключения. Так, церкарии *Cercaria portosacculus* выходят небольшими группами, а для личинок *Cercaria capricornia* группы 3 характер эмиссии неоднороден и меняется с течением времени (Holliman, 1961; Barnett et al., 2008). После попадания во внешнюю среду церкарии акантокольпид ведут себя по-разному. У одних видов личинки стремятся попасть ближе к поверхности воды, по крайней мере на ранних этапах своей жизни. Это характерно для церкарий *Tormopsolus* sp., *Cercaria capricornia* групп 1 и 2 и *Cercaria capricornia* VII-VIII (Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008, 2010). Иначе ведут себя личинки *Stephanostomum baccatum*: они не поднимаются со дна экспериментального сосуда выше, чем на несколько миллиметров (Wolfgang, 1955). Не исключено, что сходное поведение характерно еще для двух видов рода *Stephanostomum*, церкарий *S. tenue* и *S. caducum*, о чем свидетельствует используемая этими личинками стратегия поискового поведения (см. ниже; Martin, 1939; Køie, 1978). Особенности эмиссии церкарий прочих видов акантокольпид не задокументированы.

Продолжительность жизни церкарий, являющихся лецитотрофными личинками, сильно ограничена и обычно не превышает 24-х часов (Selbach, Poulin, 2020). Именно такой срок активного существования во внешней среде характерен для церкарий *Cercaria capricornia* групп 1-3 и *Cercaria capricornia* VII-VIII (Barnett et al., 2008, 2010). Задокументированная продолжительность жизни личинок ещё нескольких видов акантокольпид (*Stephanostomum baccatum*, *Cercaria portosacculus*, *N. oculata* и *Neophasis* sp.) варьирует от 1,5 суток до 3-5 дней, а в случае церкарий *S. caducum* может достигать одной недели (Wolfgang, 1955; Holliman, 1961; Чубрик, 1966; Køie, 1978; Марасаев, 1984). Срок существования во внешней среде церкарий оставшихся видов акантокольпид неизвестен.

Движение церкарий трематод может осуществляться разными способами, однако наиболее часто встречается вариант, при котором личинки плывут хвостом вперед, а их тело при этом изогнуто на вентральную сторону (Chapman, Wilson, 1973; Rees, 1975; Галактионов, Добровольский, 1998; Прокофьев, 2005). Подобный характер движения наблюдается и у церкарий многих видов акантокоल्पид: *Stephanostomum baccatum*, *S. dentatum*, *Cercaria caribbea* LXXIII, *S. caducum*, *Cercaria bengalensis* VII, *Cercaria capricornia* групп 1-3 и *Cercaria capricornia* VII-VIII (Wolfgang, 1955; Stunkard, 1961; Cable, 1963; Kōie, 1978; Gnana Mani, 1994; Barnett et al., 2008, 2010). Иначе плавают церкарии *Cercaria itoi* и *Tormopsolus* sp. (Shimura, 1984; Bartoli, Gibson, 1998). Во время движения уплощенное тело этих личинок не согнуто на вентральную сторону, а сокращено в передне-заднем направлении, в результате чего оно принимает дисковидную форму. Сходным образом плавают церкарии семейства Notocotylidae (Krupenko, Gonchar, 2017).

Для церкарий *N. anarrhichae*, не покидающих своего первого и единственного промежуточного хозяина, разными авторами приводятся противоречивые сведения, касающиеся подвижности хвоста личинок этого вида. Согласно наблюдениям М. Лебур, в одном из зараженных моллюсков церкарии были способны активно передвигаться с помощью хвоста, в то время как хвосты личинок из других зараженных букцинумов были скорее неподвижны (Lebour, 1910). Отсутствие подвижности у хвоста церкарий *N. anarrhichae*, помещенных в морскую воду, отмечает и Г.К. Чубрик (1966). Напротив, М. Койе пишет о том, что хвостатые личинки *N. anarrhichae* могут активно передвигаться с помощью своего локомоторного придатка (Kōie, 1969).

Поисковое поведение церкарий, используемое для заражения следующего хозяина в жизненном цикле, очень разнообразно, однако может быть сведено к четырем основным стратегиям: активного поиска, пассивного ожидания, активного ожидания и подражания добычи (Прокофьев, Галактионов, 2009). Любопытно, что среди церкарий акантокоल्पид можно найти примеры применения каждой из четырех перечисленных стратегий.

Исходя из имеющихся в литературе описаний, реже всего церкарии акантокоल्पид придерживаются стратегии активного поиска. Для применяющих ее личинок обычно характерно непрерывное движение, во время которого и происходит встреча со вторым промежуточным хозяином (Прокофьев, Галактионов, 2009). Такое поведение описано среди акантокоल्पид только для церкарий *Stephanostomum dentatum* (Stunkard, 1961).

Противоположный вариант поискового поведения — стратегию пассивного ожидания — демонстрируют церкарии *Stephanostomum tenue*, *S. baccatum* и *S. caducum*. Личинки этих видов, выйдя из зараженного моллюска, плавают очень непродолжительное время, после чего прикрепляются к субстрату при помощи дистальной части хвоста (Martin, 1939; Wolfgang, 1955;

Кøie, 1978). В таком виде они ожидают, когда мимо проплывет потенциальный второй промежуточный хозяин — костистая рыба.

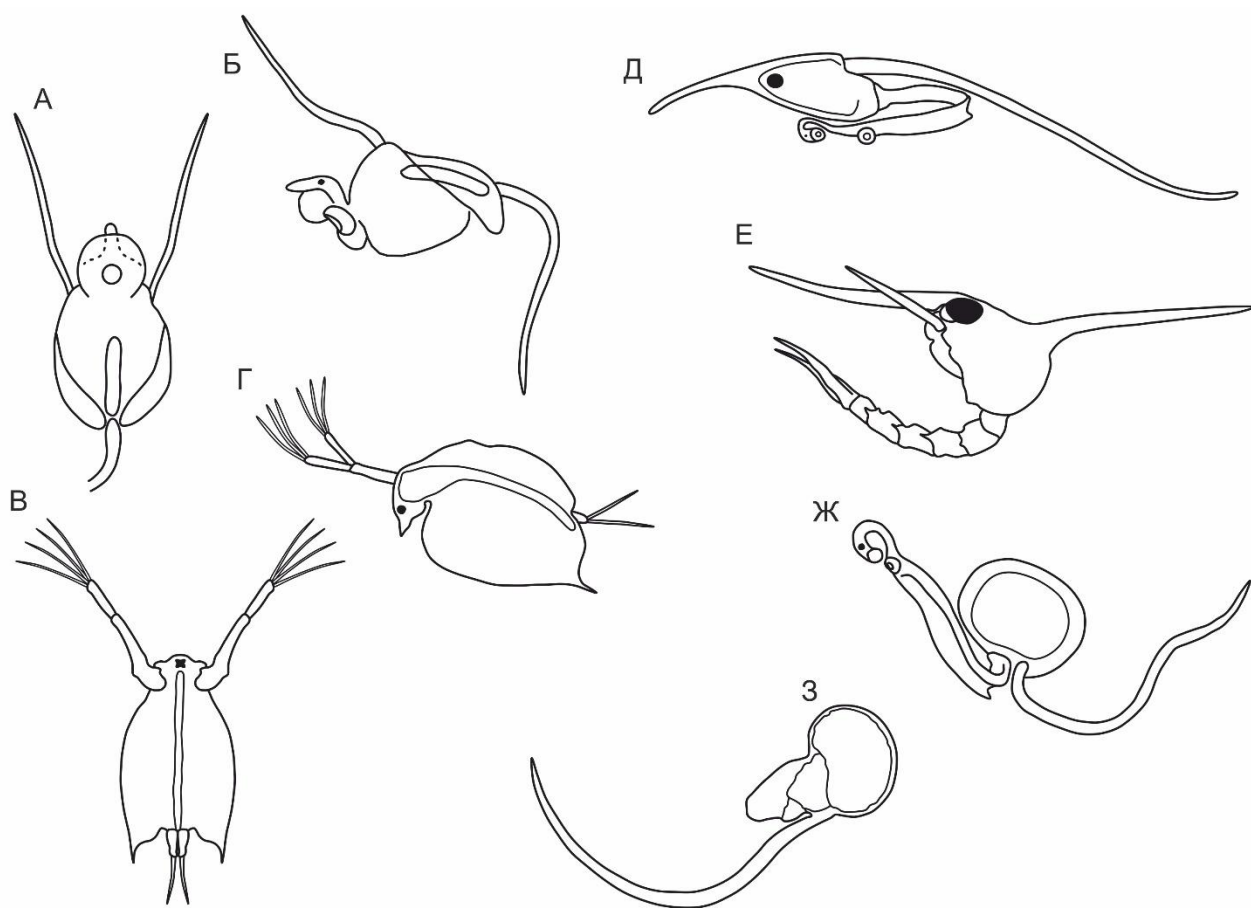
Промежуточный вариант поискового поведения демонстрируют церкарии *Cercaria capricornia* VII-VIII. Для них характерен дискретный тип локомоции: периоды активного плавания у личинок этих видов сменяются фазами покоя, во время которых тело церкарии остается согнутым на вентральную сторону (Barnett et al., 2010). Из этого можно заключить, что *Cercaria capricornia* VII-VIII, по-видимому, используют для поиска второго промежуточного хозяина стратегию активного ожидания (Прокофьев, Галактионов, 2009).

Наконец, наиболее необычным поведением среди церкарий акантокольпид характеризуются личинки *Cercaria caribbea* XXXIV, LXXII, LXXIII, *Cercaria portosacculus*, *Cercaria itoi*, *Tormopsolus* sp. и *Cercaria capricornia* групп 1–3. Для церкарий всех этих видов, за исключением *Tormopsolus* sp., характерен дискретный тип локомоции (Cable, 1956, 1963; Holliman, 1961; Shimura, 1984; Barnett et al., 2008). При этом во время фазы покоя церкарии *Cercaria caribbea* XXXIV, LXXII, LXXIII, *Cercaria portosacculus*, и *Cercaria capricornia* групп 1–3 становятся удивительно похожими на свободноживущих обитателей планктона — беспозвоночных животных, служащих пищей рыбам-микрофагам. Это сходство достигается как за счет особенностей строения личинок перечисленных видов (наличия вентрального киля и выростов на расширенном постацетабулярном отделе тела или хвостовой бульбы, а также яркой пигментации), так и в результате принятия определённой позы во время фазы покоя. Итоговая форма, которую принимают церкарии, настолько характерна, что в ней относительно легко угадываются беспозвоночные животные, внешнему виду которых, по-видимому, подражают личинки: это ветвистоусые рачки (Cladocera), зоеи (личинки Decapoda) и аппендикулярии (Рисунок 1). Иными словами, церкарии этих видов акантокольпид демонстрируют очень яркий пример стратегии подражания добычи, характерной также и для личинок некоторых других групп трематод: Azygiidae, Vivesiculidae, отдельных видов Echinostomatoidea, Opistorchioidea и Strigeidae (Combes et al., 1994; Прокофьев, Галактионов, 2009; Faltýnková et al., 2023). Этой же стратегии, по-видимому, придерживаются церкарии *Tormopsolus* sp. и *Cercaria itoi* (Shimura, 1984; Bartoli, Gibson, 1998). Крупные размеры тела личинок этих видов и наличие пигментации можно рассматривать в качестве адаптаций, служащих для привлечения внимания второго промежуточного хозяина. Примечательно, что для церкарий *Tormopsolus* sp. это было подтверждено экспериментально. При помещении вышедших из моллюска личинок этого вида в аквариум, содержащий рыб, внимание последних очень быстро привлекали крупные церкарии, которые в итоге одна за одной были съедены (Bartoli, Gibson, 1998).

Еще один удивительный пример поведения нам демонстрируют зигоцеркные церкарии *Pleorchis* sp. Okw1 (Krupenko et al., 2023). Как уже упоминалось, эти личинки образуют

агрегацию. Ее центральную часть в форме полусферы составляют переплетенные хвосты «церкарий-пассажиров», а их тела находятся по периферии. К уплощённой части полусферы прикреплены дистальные участки хвостов «церкарий-матросов». Движение агрегата осуществляется исключительно за счет работы огромных хвостов «церкарий-матросов», снабженных плавниковой мембраной. Изменение направления движения достигается за счет прекращения биения хвостов «церкарий-матросов» на одной из сторон агрегации и активации на противоположной стороне. Крупный размер агрегации и ее яркий окрас можно рассматривать в качестве адаптации для привлечения внимания второго промежуточного хозяина, а церкарий *Pleorchis* sp. Okw1 отнести к категории личинок, использующих стратегию подражания добычи. Примечательно при этом, что образование пакетов зигоцеркными церкариями обычно рассматривается в качестве адаптации для заражения именно рыб, выступающих у таких трематод в качестве второго промежуточного хозяина (Галактионов, Добровольский, 1998).





**Рисунок 1.** Церкарии некоторых видов Acanthocolpidae (А, Б, Д, Ж) и свободноживущие беспозвоночные, обитатели планктона (В, Г, Е, З), внешнему виду которых могут подражать эти личинки. *Cercaria capricornia* группа 2, форма тела личинки во время фазы покоя, вид с вентральной стороны тела (А) и сбоку (Б); из Barnett et al., 2008, с изменениями. Веслоногий рачок *Penilia avirostris* Dana, 1849, вид с вентральной стороны тела (В) и сбоку (Г). *Cercaria caribbea* XXXIV, форма тела личинки во время фазы покоя, вид сбоку (Д); из Cable, 1963, с изменениями. Зоеа, личинка краба *Corystes cassivelaunus* (Pennant, 1777), вид сбоку (Е). *Cercaria caribbea* LXXII, форма тела личинки во время фазы покоя, вид сбоку (Ж); из Cable, 1963, с изменениями. Апендикулярия *Oikopleura (Vexillaria) dioica* Fol, 1872, вид сбоку (З). Животные изображены не в масштабе. Конечности ракообразных на рисунках В, Г и Е приведены не в полном наборе.

### 1.6 Биология метацеркарий трематод семейства Acanthocolpidae

Среди Acanthocolpidae метацеркарии известны для представителей шести родов и 24 видов (Таблица 1). Для подавляющего большинства из них в литературе приведена более или менее подробная информация о внешнем и внутреннем строении личинок. Наиболее досадным исключением являются метацеркарии *Neophasis oculata* из рыб. В доступной литературе нам не удалось обнаружить даже краткого описания строения личинок этого вида. Более того, ни в одном из источников, где упоминаются метацеркарии *N. oculata* из рыб, не приведены даже

размеры этой стадии развития гермафродитного поколения (Levinsen, 1881; Догель, Розова, 1941; Полянский, 1955; Жуков, 1963).

Именно на стадии метацеркарии акантокольпиды оказываются наиболее патогенными для своих хозяев. Результаты нескольких работ позволяют заключить, что сильная зараженность камбаловых рыб метацеркариями *Stephanostomum baccatum* истощает хозяев и может повышать их уязвимость перед хищниками и, особенно в случае сеголеток, приводить к гибели (MacKenzie, Liversidge, 1975; Sommerville, 1981). Кроме того, массовое заражение метацеркариями акантокольпид промысловых видов рыб портит товарный вид этих животных (Olson, Pierce, 1991; Rojas et al., 1999).

Чаще всего метацеркарии акантокольпид паразитируют в костистых рыбах, реже они могут быть встречены в хрящевых рыбах и беспозвоночных животных — двустворчатых или головоногих моллюсках (Таблица 1). Снова обратим внимание читателя на разнообразии биологии вторых промежуточных хозяев Acanthocolpidae, среди которых встречаются не только представители донных сообществ, но также обитатели бентопелагиали и пелагиали (Таблица 1). Отдельно стоит остановиться на спектре вторых промежуточных хозяев *Neophasis oculata*. В отличие от прочих видов акантокольпид, метацеркарии *N. oculata* известны как из двустворчатых моллюсков, так и из 11-ти видов рыб (Таблица 2). Все виды рыб являются обитателями бентосных сообществ и практически без исключения принадлежат отряду Perciformes (окунеобразные).

Достаточно сильно варьирует локализация метацеркарий во втором промежуточном хозяине. В случае рыб, личинки чаще всего паразитируют в мускулатуре, жабрах, ротовой полости и различных внутренних органах (включая головной мозг), однако могут быть также встречены в плавниках, мезентериях, полости тела, коже и стекловидном теле глаза. В двустворчатых моллюсках метацеркарии локализуются на стенке мантии или на жабрах, а у карибского рифового осьминога инцистированные личинки были обнаружены в мантийной полости, кишечном мезентерии и тканях, прилежащих к жаберным артериям (Таблица 1, 2).

У подавляющего большинства видов акантокольпид метацеркарии отделены от окружающих тканей хозяина цистой (Таблица 1). Для метацеркарий пяти видов рода *Stephanostomum* было показано наличие в цисте двух слоев: наружного, более толстого, и более тонкого внутреннего (Lühe, 1906; Yamaguti, 1936; Wolfgang, 1955; Madhavi, Shameem, 1993). Согласно наблюдениям Р.В. Вольфганга, наружный слой цисты метацеркарий *Stephanostomum baccatum* формируется в результате защитной реакции со стороны хозяина (Wolfgang, 1955), поэтому правильнее будет обозначать его капсулой. Аналогичные данные приводятся и для личинок *Stephanostomum cesticillus* (Molin, 1858) Looss, 1899 (De Benedetto et al., 2023). Согласно результатам другого исследования, вокруг метацеркарий *S. baccatum* в результате иммунного

ответа камбаловых рыб формируется двухслойная капсула, а циста паразита является, по-видимому, однослойной (Sommerville, 1981). Точно такие же данные приводит С. Ямагути для личинки *Stephanostomum ceylonicum* (Lühe, 1906) Caballero, 1952. Метацеркарии этого вида отделены от тканей хозяина однослойной цистой, снаружи от которой вплотную прилегает двухслойная капсула (Yamaguti, 1934). Инкапсуляция цист паразитов соединительной тканью хозяина также была отмечена для метацеркарий *Manteria* sp. из розового маомао и *Stephanostomum* sp. 3 из карибского рифового осьминога (Overstreet, Hochsberg, 1975; Rojas et al., 1999).

Среди акантокольпид только метацеркарии *Neophasis anarrhichae* не способны к инцистированию. Это не вызывает удивления, поскольку, как уже было отмечено, церкарии данного вида не покидают первого промежуточного хозяина, а становятся инвазионными для окончательного хозяина метацеркариями, все еще находясь в зародышевой полости дочерних редий (Lebour, 1910; Чубрик, 1966; Køie, 1969, 1973). Сходную картину — отсутствие цисты у метацеркарий — можно наблюдать и у других трематод со вторично диксенными жизненными циклами, например, у отдельных представителей семейства Microphallidae (Galaktionov et al., 2012).

Метацеркарии акантокольпид, в целом, характеризуются крупными размерами тела, максимальная длина которого у некоторых видов может превышать 4 мм (Таблица 1). При этом среди Acanthocolpidae имеются и небольшие личинки, длина тела которых не достигает 1 мм, а наименьшими размерами (менее 500 мкм) обладают метацеркарии *Neophasis anarrhichae*, *N. oculata* из двустворчатых моллюсков и *Stephanostomum caducum* (Таблица 1).

Достаточно ярким признаком, характеризующим практически всех метацеркарий Acanthocolpidae, являются остатки пигментированных глаз, разбросанные в виде пигментных гранул по паренхиме в передней части тела червей, обычно по бокам от префаринкса (Синицин, 1911; Yamaguti, 1934, 1936; Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Stunkard, 1961; Мамаев, Ошмарин, 1966; Чубрик, 1966; Overstreet, Hochsberg, 1975; Køie, 1978; Madhavi, Shameem, 1993; Bartoli, Gibson, 1998; Vidal-Martínez et al., 2012). Исключение составляют только метацеркарии *Stephanostomum ceylonicum*, *Stephanostomum euzeti* Bartoli & Bray, 2004, *Stephanostomoides tenuis* (Manter, 1963) Hafeezullah, 1978 и *Manteria* sp., у которых остатки пигментированных глаз отсутствуют (Lühe, 1906; Мамаев, Ошмарин, 1966; Rojas et al., 1999; Pérez-del Olmo et al., 2007).

У подавляющего большинства метацеркарий Acanthocolpidae тегумент вооружен шипами. Чаще всего шипы присутствуют только в передней части тела, что характерно для метацеркарий *Stephanostomum ceylonicum*, *S. japonicum*, *Stephanostomum* sp. 2, *Tormopsolus* sp. 1, *Stephanostomum tenue*, *S. baccatum*, *Acanthocolpus liodoris*, *S. caducum*, *S. cloacum*, *Tormopsolus* sp. 2 и *Stephanostomum* sp. 4 (Lühe, 1906; Yamaguti, 1934, 1936; Martin, 1939; Wolfgang, 1955;

Stunkard, 1961; Мамаев, Ошмарин, 1966; Køie, 1978; Madhavi, Shameem, 1993; Bartoli, Gibson, 1998; Vidal-Martínez et al., 2012). Несколько реже авторы пишут, что тело личинок целиком покрыто шипами, обычно более крупными и густо посаженными в его передней части, и более мелкими и редко сидящими — в задней. Такой характер вооружения тегумента был отмечен для метацеркарий *Stephanostomum euzeti*, *Stephanostomum hispidum*, *Stephanostomoides tenuis*, *Neophasis anarrhichae*, *N. oculata*, *Stephanostomum* sp. 3, *Manteria* sp. и *Acanthocolpidae* gen. sp. (Yamaguti, 1936; Мамаев, Ошмарин, 1966; Чубрик, 1966; Overstreet, Hochsberg, 1975; Rojas et al., 1999; Pérez-del Olmo et al., 2007; Vidal-Martínez et al., 2012). Не приведено описание вооружения тегумента только для личинок *Stephanostomum bicoronatum* и *S. dentatum* (Yamaguti, 1936; Stunkard, 1961), а для метацеркарий *Stephanostomum* sp. 1 указано, что тегумент личинок не вооружен шипами (Синицин, 1911).

Помимо тегумента тела, у метацеркарий акантокольпид также может быть вооружена ротовая присоска. Наличие двух рядов крупных, расположенных в шахматном порядке циркуморальных шипов было отмечено для всех личинок рода *Stephanostomum*, а также *Stephanostomoides tenuis* и *Manteria* sp. (Lühe, 1906; Синицин, 1911; Yamaguti, 1934, 1936; Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Stunkard, 1961; Мамаев, Ошмарин, 1966; Overstreet, Hochsberg, 1975; Køie, 1978; Madhavi, Shameem, 1993; Rojas et al., 1999; Pérez-del Olmo et al., 2007; Vidal-Martínez et al., 2012).

В литературе имеются единичные описания желез у метацеркарий акантокольпид. Так, личинки *N. anarrhichae* обладают небольшой группой железистых клеток, расположенных позади ротовой присоски, а у метацеркарий *Stephanostomum tenue* имеются ассоциированные с пищеводом железистые клетки (Lebour, 1910; Martin, 1939). Кроме того, Г. К. Чубрик (1966) показала, что метацеркарии *N. anarrhichae* сохраняют имевшиеся у церкарии железы проникновения. Наконец, М. Койе отмечала, что у метацеркарий *Stephanostomum caducum* на второй день после заражения все еще видны железы проникновения и «цистогенные железы» (см. выше), хотя их секрет уже израсходован (Køie, 1978). Для прочих метацеркарий акантокольпид наличие железистых клеток показано не было.

Пищеварительная система у подавляющего большинства акантокольпид на стадии метацеркарии уже полностью сформирована. В ее состав входят длинный префаринкс, глотка, зачастую обладающая крупными размерами, короткий пищевод, который был обнаружен не у всех личинок и длинные ветви кишечника, тянущиеся практически до самой задней части тела (Lühe, 1906; Синицин, 1911; Yamaguti, 1934, 1936; Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Stunkard, 1961; Мамаев, Ошмарин, 1966; Чубрик, 1966; Overstreet, Hochsberg, 1975; Køie, 1978; Madhavi, Shameem, 1993; Bartoli, Gibson, 1998; Vidal-Martínez et al., 2012). Просвет в ветвях кишечника обычно сформирован, а у метацеркарий *Stephanostomum* sp. 2, *Stephanostomum hispidum*,

*Tormopsolus* sp. 1, *S. tenue*, *S. dentatum*, *Acanthocolpus liodorus*, *S. cloacum*, *Tormopsolus* sp. 2 и *Manteria* sp. дистальные части ветвей кишечника открываются в мочевой пузырь в районе экскреторной поры, образуя уропрокт (Yamaguti, 1934, 1936; Stunkard, 1961; Madhavi, Shameem, 1993; Bartoli, Gibson, 1998; Rojas et al., 1999). Не были обнаружены ветви кишечника только у метацеркарий *Stephanostomum bicoronatum* и *Stephanostomum euzeti*, а у метацеркарий *Acanthocolpidae* gen. sp. из всех органов пищеварительной системы была выявлена только глотка (Yamaguti, 1936; Pérez-del Olmo et al., 2007; Vidal-Martínez et al., 2012). Наконец, для метацеркарий *Stephanostomoides tenuis* описание пищеварительной системы не приведено вовсе (Мамаев, Ошмарин, 1966).

Протонефридальная система метацеркарий акантокольпид описана крайне поверхностно. Для личинок почти всех видов характерен «тонкостенный» мочевой пузырь, обладающий овальной, яйцевидной, шаровидной или I-образной формой (Lühe, 1906; Сеницин, 1911; Yamaguti, 1934, 1936; Wolfgang, 1955; Stunkard, 1961; Мамаев, Ошмарин, 1966; Чубрик, 1966; Overstreet, Hochsberg, 1975; Køie, 1978; Madhavi, Shameem, 1993; Bartoli, Gibson, 1998; Rojas et al., 1999; Pérez-del Olmo et al., 2007; Vidal-Martínez et al., 2012). У многих метацеркарий он занимает значительный объем задней части тела и часто достигает задней границы брюшной присоски. Наличие мочевого пузыря не было отмечено только для личинок *Stephanostomum tenue* и *Stephanostomoides tenuis* (Martin, 1939; Мамаев, Ошмарин, 1966).

Просвет мочевого пузыря у метацеркарий акантокольпид зачастую заполнен округлыми, оптически непрозрачными включениями, являющимися, по-видимому, продуктами метаболизма личинок (Lühe, 1906; Сеницин, 1911; Yamaguti, 1934, 1936; Wolfgang, 1955; Stunkard, 1961; Чубрик, 1966; Køie, 1978; Мамаев, Ошмарин, 1966; Madhavi, Shameem, 1993; Rojas et al., 1999; Vidal-Martínez et al., 2012). Эти включения у метацеркарий *Stephanostomum baccatum*, по-видимому, имеют липидную природу, поскольку положительно окрашиваются Суданом III (Wolfgang, 1955). В мочевом пузыре метацеркарий *Neophasis anarrichae* и *Tormopsolus* sp. 2 наличие каких-либо включений показано не было (Чубрик, 1966; Bartoli, Gibson, 1998). Для личинок *Stephanostomum ceylonicum* *S. hispidum*, *S. baccatum*, *Tormopsolus* sp. 1 и *Acanthocolpus liodorus* указано, что от передней части их мочевого пузыря отходят главные собирательные каналы, тянущиеся в сторону переднего конца тела (Lühe, 1906; Yamaguti, 1936; Wolfgang, 1955; Мамаев, Ошмарин, 1966). У метацеркарий *Tormopsolus* sp. 1 в районе префаринкса они разделяются на короткую переднюю и длинную задние ветви (Yamaguti, 1936). Число циртоцитов не было подсчитано ни для одного из видов.

Половая система у метацеркарий акантокольпид представлена в той или иной степени дифференцированным зачатком, завершение ее формирования и начало функционирования чаще всего приходится на маритогонию, протекающую в окончательном хозяине. Однако, как уже

упоминалось, метацеркарии *Neophasis oculata* из рыб способны приступать к яйцепродукции все еще находясь во втором промежуточном хозяине (Догель, Розова, 1941).

Наименее дифференцированным зачатком половой системы обладают метацеркарии *Tormopsolus* sp. 2. На 12-й день после экспериментального заражения он был представлен клеточным тяжем, расположенным в теле медиально и тянущимся от переднего конца мочевого пузыря в сторону задней границы брюшной присоски; зачатки гонад у этого вида выявлены не были (Bartoli, Gibson, 1998).

Слабо дифференцированным зачатком половой системы также обладают метацеркарии *Stephanostomum tenue*, в составе которого, однако, можно различить зачатки протоков мужской половой системы (бурсы цирруса), общий зачаток яичника и протоков женской половой системы, а также одного семенника (Martin, 1939). В более поздней работе зачаток половой системы личинки *S. tenue* изображен сходным образом: в его составе имеются небольшие зачатки семенников и яичника, а также длинный клеточный тяж, расположенный в теле медиально и являющийся, по-видимому, зачатком протоков женской половой системы (Stunkard, 1961).

У метацеркарий *Stephanostomum ceylonicum* и *Stephanostomum* sp. 4 из всех органов половой системы были выявлены только две формирующиеся мужские гонады, а у личинок *Stephanostomum* sp. 1, *Neophasis anarrichae*, *N. oculata* и *Manteria* sp. помимо зачатков двух семенников был также обнаружен зачаток яичника (Lühe, 1906; Синицин, 1911; Чубрик, 1966; Rojas et al., 1999; Vidal-Martínez et al., 2012). У метацеркарий еще нескольких видов акантокольпид — *Stephanostomum japonicum*, *Stephanostomum* sp. 2, *S. bicoronatum*, *S. hispidum*, *Tormopsolus* sp. 1, *S. baccatum*, *S. dentatum*, *Acanthocolpus liodorus*, *Stephanostomum* sp. 3 — зачаток половой системы представлен не только зачатками мужских и женской гонад, но также формирующимися протоками мужской и женской половой систем. Из всех них, только у личинок *Tormopsolus* sp. 1 и *Stephanostomum dentatum* формирующиеся протоки слабо дифференцированы (Yamaguti, 1936; Stunkard, 1961). У метацеркарий оставшихся видов уже хорошо различимы формирующиеся дистальные участки протоков мужской половой системы (семенной пузырек, семяизвергательный канал, простатические железы) и bursa цирруса, а также оотип, матка, метратерм, и, в некоторых случаях, яйцевод, Лауреров канал, половой атриум и его отверстие (Yamaguti, 1934, 1946; Wolfgang, 1955; Мамаев, Ошмарин, 1966; Overstreet, Hochsberg, 1975). Более того, у личинок *Stephanostomum japonicum*, *S. hispidum* и *S. baccatum* также были обнаружены формирующиеся желточные фолликулы. Они представлены двумя клеточными полями, расположенными латерально в задней части тела, в непосредственной близости от ветвей кишечника (Yamaguti, 1934, 1946; Wolfgang, 1955). Наконец, для метацеркарий *Stephanostomoides tenuis*, *Stephanostomum caducum*, *Stephanostomum cloacum*, *Stephanostomum euzeti* и *Acanthocolpidae* gen. sp. из Vidal-Martínez et al. (2012) данные об организации зачатка

половой системы не приведены (Мамаев, Ошмарин, 1966; Kōie, 1978; Madhavi, Shameem, 1993; Pérez-del Olmo et al., 2007; Vidal-Martínez et al., 2012).

### 1.7 Общая характеристика марит трематод семейства *Acanthocolpidae*

Мариты акантокольпид поселяются преимущественно в различных отделах пищеварительного тракта хищных морских костистых рыб, реже морских змей (Coil, Kuntz, 1960; Bray, 2005). Они могут быть обнаружены в желудке, средней кишке и пилорических придатках, а также в задней кишке своих хозяев (Мамаев, Ошмарин, 1966; Bartoli et al., 2004). Изредка мариты акантокольпид заселяют прочие внутренние органы рыб, например мочевой пузырь (Жуков, 1960; Bray, Gibson, 1991). Мариты акантокольпид являются достаточно крупными организмами. Размеры их тела, преимущественно, колеблются в пределах нескольких миллиметров (Жуков, 1960; Мамаев, Ошмарин, 1966; Bray, Cribb, 2000; Bray, Justine, 2011; Gupta et al., 2011), но в некоторых случаях длина тела червя может достигать одного сантиметра (Bray, Cribb, 2001; Bartoli et al., 2004; Bray, Justine, 2012). Наименьшими размерами среди марит акантокольпид характеризуются виды рода *Neophasis* (см. обзор в Bray, Gibson, 1991). Длина тела взрослых червей *N. oculata* едва превышает 1,5 мм. Еще меньшими размерами обладают мариты *N. anarrhichae* и *N. pusilla* Stafford, 1904, среднее значение длины тела этих червей находится в районе 500 мкм.

Ниже мы приводим краткую выжимку ключевых морфологических характеристик марит акантокольпид, сделанную Р.А. Брэм для книги “Keys to the Trematoda” (Bray, 2005). Тело овальное, вытянутое, уплощенное в дорзо-вентральном направлении. Tegument тела, семязвергательный канал и метратерм вооружены шипами. Ротовая присоска может быть вооружена двумя рядами крупных шипов, расположенных в шахматном порядке. Передняя часть тела также может нести разнообразное вооружение из крупных шипов. Могут иметься остатки пигментированных глаз. Ротовая присоска расположена субтерминально, брюшная присоска находится примерно в середине тела. Префаринкс присутствует, глотка хорошо развита. Пищевод короткий, ветви кишечника разделяются в передней части тела, слепо заканчиваются в задней части тела, либо, у некоторых видов, сливаются с мочевым пузырем и образуют уропрокт; могут быть снабжены латеральными дивертикулами. Изредка присутствуют пара передних ветвей кишечника. Семенника обычно два, расположены они друг за другом, реже по диагонали. Изредка семенники множественные, расположенные 2-4 рядами в задней части тела. Бурса цирруса присутствует. Семенной пузырек обычно внутренний, овальный, двухчастный, трехчастный или трубчатый. Простатические железы присутствуют. Половой атриум трубчатый, может быть коротким или длинным, иногда вооружен шипами. Половое отверстие расположено

медиально сразу перед брюшной присоской. Яичник расположен медиально или субмедиально, в задней части тела перед семенниками. Лауреров канал имеется. Матка достаточно короткая, ее петли располагаются в задней части тела в пространстве между яичником и половым отверстием, реже между передним семенником и половым отверстием. Желточники фолликулярные. Фолликулы располагаются в теле латерально, тянутся от его заднего конца до задней границы брюшной присоски, реже достигают уровня глотки. Яйца обычно крупные, снабжены крышечкой, их количество в матке сильно варьирует. Мочевой пузырь I-образный, реже Y-образный или мешковидный.

### 1.8 Общая характеристика жизненных циклов трематод семейства Brachycladiidae

Обобщенное представление о жизненном цикле Brachycladiidae плавно вытекает из имеющегося в литературе теоретического объяснения эволюционного происхождения этой группы трематод, согласно которому брахикладииды отделились от родственников им акантокольпид в результате колонизации (“host-switch”) новой группы окончательных хозяев — морских млекопитающих (Cable, 1974; Fernández et al., 1998b; Bray et al., 2005; Fraija-Fernández et al., 2015, 2016). Иными словами, подразумевается, что спектр промежуточных хозяев брахикладиид остался тем же самым, что и у акантокольпид: их первыми промежуточными хозяевами должны быть морские ценогастроподы, а вторыми промежуточными — морские рыбы. Однако насколько эти представления соответствует действительности — все еще не ясно, поскольку до настоящего момента жизненные циклы брахикладиид остаются нерасшифрованными. Ниже мы приводим те немногочисленные свидетельства о строении личинок и данные о потенциальных промежуточных хозяевах Brachycladiidae, обнаруженные нами в литературных источниках.

Из резюме магистерской диссертации Д.Г. Илсон можно заключить, что мирацидий у вида *Zalophotrema hepaticum* Stunkard & Alvey, 1929, марицы которого паразитируют в печени калифорнийского морского льва, выходит из яйца во внешней среде (Elson, 1995). После вылупления личинка активно ищет первого промежуточного хозяина, проявляя отрицательный фото- и положительный геотаксисы. В этом исследовании также была описана ультраструктура мирацидия, приведены данные об организации его нервной системы и органов чувств.

В своей работе 1974 года Р.М. Кэйбл отмечал, что ему удалось обнаружить церкарий *Orthosplanchnus fraterculus* Odhner, 1905, паразита калана (Cable, 1974). При этом он не приводит никакой информации о строении найденных им личинок и только упоминает, что, как и в случае церкарий акантокольпид, они снабжены парой пигментированных глаз. Неназванным остался и вид первого промежуточного хозяина, морской гастроподы, в которой Р.М. Кэйбл обнаружил



церкарий *O. fraterculus*. К сожалению, эти результаты так и не были в дальнейшем опубликованы в полном виде.

В начале XX века Р.А. Брэй с соавторами высказали предположение, что описанная П. Бартоли и Д.И. Гибсоном церкария *Tormopsolus* sp. может на самом деле принадлежать какому-то из видов брахикладиид (Bartoli, Gibson, 1998; Bray et al., 2005). Позднее австралийские исследователи также предполагали, что обнаруженные ими *Cercaria capricornia* 1-3 групп могут оказаться личинками Brachycladiidae (Barnett et al., 2008). Однако в следующей своей работе Л.Дж. Барнетт и Т.Л. Миллер убедительно продемонстрировали, используя молекулярно-генетические методы, что *Cercaria capricornia* 1-3 групп являются личинками акантокольпид и обладают большим сродством к *Tormopsolus orientalis*, чем к представителям брахикладиид (см. выше; Barnett, Miller, 2018).

В литературе существует достаточно устоявшееся представление, что в роли второго промежуточного хозяина брахикладиид выступают морские костистые рыбы (Десямуре, 1955; Adams et al., 1998; Andersen-Ranberg et al., 2018). Встречается, однако, альтернативная точка зрения, согласно которой метацеркарии Brachycladiidae паразитируют в головоногих моллюсках (Nakagun et al., 2018). Доказательная база в обоих случаях косвенная и сводится к преобладанию рыбы или головоногих в пищевом рационе того или иного вида окончательного хозяина. При этом как минимум дважды различные исследователи пробовали проверить подобные предположения фактическими природными наблюдениями (Dailey, 1969; Silveira et al., 2017). В рыбах и головоногих моллюсках ими были обнаружены личиночные стадии нематод, скребней и цестод, взрослые особи которых паразитируют в морских млекопитающих, но метацеркарии брахикладиид, к сожалению, найдены не были.

### 1.9 Общая характеристика марит трематод семейства Brachycladiidae

Чаще всего мариты брахикладиид поселяются в печени и желчном пузыре, а также в протоках, ассоциированных с этими органами. Несколько реже они встречаются в различных отделах кишечника. Отдельные виды поселяются в легких или назальных пазухах своих хозяев, а также во внутреннем ухе и головном мозге (Kim et al., 2023). Мариты брахикладиид, в целом, являются достаточно крупными паразитическими организмами. Наименьшими размерами тела характеризуются два вида рода *Orthosplanchnus* Odhner, 1905: *O. pygmaeus* Yurakhno, 1967 и *O. oculatus* Yurakhno, 1970, у которых максимальная длина тела составляет 1,81 и 1,32 мм, соответственно (Юрахно, 1967, 1969). При этом среди брахикладиид встречаются мариты исключительно больших размеров. ЗадOCUMENTированная длина тела *Hunterotrema caballeroi* McIntosh, 1960 достигает порядка 25 см (Woodard et al., 1969). В большинстве случаев, однако,

размеры марит брахикладиид колеблются в диапазоне от нескольких миллиметров до нескольких сантиметров (Salvador et al., 1996).

Ниже мы приводим краткую выжимку ключевых морфологических характеристик марит брахикладиид, сделанную Д.И. Гибсоном для книги “Keys to the Trematoda” (Gibson, 2005). Тегумент тела, семяизвергательный канал и метратерм вооружены шипами. Ротовая присоска расположена субтерминально, брюшная присоска находится в передней трети тела, реже сдвинута ближе к центру. У вида *O. oculatus* имеются остатки пигментированных глаз (Юрахно, 1969), у прочих видов они обнаружены не были. Префаринкс присутствует, глотка хорошо развита. Пищевод короткий, ветви кишечника разделяются в передней части тела. У некоторых видов имеется пара передних ветвей кишечника. Задние ветви кишечника слепо заканчиваются в задней части тела либо, у некоторых видов, сливаются с мочевым пузырем и образуют уропрокт. Ветви кишки могут быть снабжены латеральными дивертикулами. Два семенника расположены в задней части тела, обычно цельнокрайние, иногда лопастные. Бурса цирруса обычно присутствует, семенной пузырек мешковидный. Половой атриум небольшого размера. Половое отверстие расположено на вентральной стороне тела, обычно перед брюшной присоской. Яичник небольшого размера, расположен перед семенниками. Лауреров канал имеется. Матка достаточно короткая, ее петли расположены в пространстве между яичником и половым отверстием. Желточники фолликулярные, фолликулы расположены в основном задней части тела, но часто заходят и в его переднюю часть. Трубочатый мочевой пузырь I-образной формы.

## Глава 2 Материал и методика

### 2.1 Сбор материала

Материал был собран в трех районах Белого моря: Керетском архипелаге, проливе Великая Салма (Кандалакшский залив) и в окрестностях острова Большой Соловецкий (Онежский залив) в летние (июнь-август) и осенние (сентябрь-октябрь) месяцы 2018-2021 гг. Кроме того, в работу были включены данные по двум букцинумам, зараженным партенитами и метацеркариями *Neophasis anarrhichae*, собранным в окрестностях УНБ СПбГУ «Беломорская» в летние месяцы 2015 и 2016 гг.

Окончательные хозяева *N. anarrhichae* и *N. oculata* — полосатая зубатка *Anarhichas lupus* Linnaeus, 1758 и европейский керчак *Myoxocephalus scorpius* — были пойманы с помощью жаберных сетей, донных удочек и крабовых ловушек. В общей сложности было вскрыто 28 зубаток и 92 керчака. Метацеркарии *N. oculata* были получены из 12 особей европейского керчака. Для поиска метацеркарий *N. oculata* были также выловлены и вскрыты двустворчатые моллюски семейства Cardiidae: 127 особей *Serripes groenlandicus* (Mohr, 1786) и 39 особей *Ciliatocardium ciliatum* (Fabricius, 1780). Сбор бивальвий осуществлялся с помощью драги и легковоголазного оборудования.

Для получения партенит и церкарий были выловлены и вскрыты гастроподы семейств Buccinidae (*Neptunea despecta*, *Buccinum scalariforme* Møller, 1842, *B. undatum*) и Naticidae (*Amauropsis islandica* (Gmelin, 1791), *Euspira pallida* (Broderip & G. B. Sowerby I, 1829) и *Cryptonatica affinis*). Сбор гастропод осуществлялся с помощью драги, крабовых ловушек и легковоголазного оборудования. Одна особь гастроподы *C. affinis* из Онежского залива была любезно предоставлена коллегами с ББС МГУ имени Н.А. Перцова. Моллюск был собран на глубине порядка 70 м с помощью корабельного трала. В общей сложности было вскрыто 2697 гастропод семейства Buccinidae (119 *N. despecta*, 31 *B. scalariforme*, 2547 *B. undatum*) и 317 гастропод семейства Naticidae (290 *C. affinis*, 24 *E. pallida*, 3 *A. islandica*).

Для получения марит пойманных рыб вскрывали, извлекали пищеварительную систему, после чего нарезали желудочно-кишечный тракт на небольшие фрагменты. Их разрезали вдоль, после чего содержимое кишечника счищали с помощью скальпеля в чашку Петри. Химус и внутреннюю стенку кишки затем рассматривали с помощью стереомикроскопа МБС-10. Для поиска метацеркарий в рыбах у последних были отрезаны грудные и хвостовой плавники,

которые затем были помещены в чашку Петри, заполненную физиологическим раствором. Мускулатуру в основании плавников раздвигали при помощи препаровальных игл, ими же извлекали обнаруженные цисты. Метацеркарий доставали из цист при помощи энтомологических булавок. Двустворчатых моллюсков извлекали из раковины при помощи скальпеля, после чего все их внутренние органы последовательно нарезали на небольшие фрагменты и просматривали раздавленными между двумя стеклами. Обнаруженные цисты извлекали из тканей хозяина при помощи препаровальных игл. Метацеркарий доставали из цист при помощи энтомологических булавок. Раковины гастропод разрушали при помощи молотка или камня, после чего вскрывали по системам органов при помощи двух пинцетов. Обследованию подвергались выделительная система (почка), пищеварительный тракт (пищевод, желудок, средняя и задняя кишка), гепатопанкреас и половая система (гонада и её протоки) хозяина.

## 2.2 Гистологические срезы и тотальные препараты

Для изготовления тотальных препаратов мариты и извлеченные из цист метацеркарии были зафиксированы в 96 % этиловом спирте под давлением покровного стекла, или были убиты нагреванием над пламенем спиртовки в капле физиологического раствора, после чего также зафиксированы этанолом. Из фрагментов печени зараженных гастропод были изготовлены мазки, зафиксированные раствором Шаудина (при 60 °С), или смесью насыщенного раствора сулемы с ледяной уксусной кислотой (100:1) при комнатной температуре. Для изучения общей анатомии тотальные препараты и мазки, зафиксированные раствором Шаудина, были окрашены квасцовым кармином с последующей дифференцировкой в 0.1 М растворе HCl в 70 % этаноле. Кроме того, часть мазков была окрашена железным гематоксилином Гейденгайна, с последующей дифференцировкой в насыщенном растворе пикриновой кислоты. Мазки, зафиксированные в смеси сулемы с ледяной уксусной кислотой, были окрашены толуидиновым синим для выявления метахроматической реакции на муцины. Толуидиновым синим были также окрашены зафиксированные спиртом церкарии *Neophasis* sp. из брюхоногого моллюска *C. affinis*. После окрашивания объекты были обезвожены в серии этиловых спиртов восходящей крепости и бутаноле, просветлены в ксилоле, после чего заключены в канадский бальзам.

Для изготовления гистологических срезов фрагменты печени зараженных моллюсков, а также метацеркарии *N. oculata* из керчаков были зафиксированы в жидкости Ценкера с добавлением 40 % формалина (10:0,5). Время фиксации составляло 2 часа (гепатопанкреас зараженных моллюсков) или 1 час (метацеркарии). После фиксации образцы были отмыты в часто сменяемой проточной воде (2 часа), затем на один час переведены в раствор йода на 70 %

этиловом спирте для удаления остатков сулемы. Очищенные от фиксатора образцы были переложены в чистый 70 % этанол. Последующая заливка была проведена в соответствии со следующим протоколом: два часа в 96 % этаноле; неделя в растворе Петерфи; 1-1,5 часа в чистом хлороформе; ночь в смеси хлороформа и парафиновой среды Гистомикс (Histomix™), 1:1, в термостате при 37 °С; 50 минут в растворе чистой парафиновой среде, в термостате при 60 °С; остужение формочки, содержащей парафиновую среду с залитым объектом, при комнатной температуре. Из полученных блоков были изготовлены серийные гистологические срезы толщиной 5 мкм при помощи микротомы Leica RM2265. Далее срезы были депарафинированы в ксилоле и проведены через бутанол и серию этиловых спиртов нисходящей крепости до дистиллированной воды. Затем срезы были окрашены кислым гематоксилином Эрлиха и эозином, либо железным гематоксилином Гейденгайна, либо по Маллори (трехцветный краситель: окрашивание раствором кислого фуксина, протрава в фосфорно-молибденовой кислоте, окраска смесью анилинового синего и оранжа G), либо азур II-эозином (для выявления метахроматической реакции на муцины). Окрашенные срезы были обезвожены в серии этиловых спиртов восходящей крепости и бутаноле, затем просветлены в ксилоле, после чего заключены в синтетическую среду Biomount™. Все использованные протоколы для изготовления гистологических срезов и последующего окрашивания базировались на методических рекомендациях из “Большого практикума по зоологии беспозвоночных” Иванова с соавторами (1981).

Готовые срезы, мазки и тотальные препараты были изучены с помощью светового микроскопа Leica DM2500. Фотографии были сделаны на том же микроскопе с помощью камеры Nikon DS Fi3. Измерения выполнены с помощью программного обеспечения Fiji (Schindelin et al., 2012).

### **2.3 Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия**

Для обработки методами иммуногистохимического и флуоресцентного окрашивания метацеркарии и церкарии были зафиксированы в 4% параформальдегиде (PFA), разведенном на 0,1 М натрий-фосфатном буфере (PBS). Фиксацию проводили в течение 6-24 часов при температуре 4 °С. Затем образцы были отмыты в трех сменах 0,1 М PBS (при 4 °С) и переведены в 0,1 % раствор азиды натрия на PBS. В таком виде материал хранили при 4 °С. Мы использовали антитела к ацетилированному альфа-тубулину для выявления каналов протонефридиальной системы, циртоцитов и протоков железистых клеток. Антитела к фосфотирозину были использованы в первую очередь также для выявления различных элементов протонефридиальной системы органов (Collins et al., 2011; Rozario, Newmark, 2015). Для

визуализации мышечных элементов, а также актина в микровиллях циртоцитов был использован TRITC-фаллоидин. Выявление ядер было выполнено с помощью DAPI, флуоресцентного красителя, селективно окрашивающего ДНК.

Перед иммуногистохимическим окрашиванием образцы были преинкубированы в течение суток в 2 % растворе бычьего сывороточного альбумина (BSA) на 0,1 М PBS с добавлением 0,5 % детергента Triton X-100. Далее материал инкубировали с первичными антителами к альфа-тубулину (T6793, Sigma Aldrich, mouse) и фосфотирозину (T1325, Sigma Aldrich., rabbit), разведенными в 0,1 М PBS в соотношении 1:500. Время инкубации составляло трое суток и происходило при 4 °С. Затем образцы были отмыты в трех сменах 0,1 М PBS в течение 3 часов. После этого материал инкубировали со вторичными антителами CF633 goat anti-mouse (SAB4600138, Sigma Aldrich) и CF488 chicken anti-rabbit (SAB4600030, Sigma Aldrich), разведенными в PBS в соотношении 1:1000. Время инкубации составляло двое суток и проходило при 4 °С. Затем образцы были отмыты в трех сменах 0,1 М PBS в течение часа. После этого материал в течение часа был обработан TRITC-конъюгированным фаллоидином, разведенным в соотношении 500 нг на 1 мл PBS, после чего образцы были отмыты в трех сменах PBS в течение 30 минут; все манипуляции произведены при 4 °С. Наконец, объекты помещали в среду для заключения Fluoroshield™ (F6057, Sigma Aldrich), содержащую DAPI, и изготавливали препараты. Съемка окрашенных препаратов была осуществлена с использованием сканирующего конфокального микроскопа с мультифотонным возбуждением Leica TCS SP5 MP и конфокального лазерного микроскопа LEICA TCS SPE. Полученные серии оптических срезов были обработаны с использованием программного обеспечения Fiji (Schindelin et al., 2015).

### **2.3 Сканирующая электронная микроскопия**

Для сканирующей электронной микроскопии образцы были зафиксированы в 2,5 % глутаральдегиде, разведенном на 0,01 М PBS. Затем фиксированные черви были отмыты в дистиллированной воде, обезвожены в серии спиртов восходящей крепости и ацетоне, высушены через критическую точку, напылены частицами платины и изучены с помощью сканирующего электронного микроскопа Quanta 250. Съемка проводилась в режиме высокого вакуума при ускоряющем напряжении 15 кВ.

### **2.4 Молекулярно-генетический анализ**

Для проведения молекулярно-генетического анализа партениты, метацеркарии и мариты были зафиксированы в 96 % спирте. Фиксации хранили в холодильнике при температуре 4 °С. В общей сложности, ДНК была выделена из 41 изолята (Таблица 3). Для выделения ДНК образцы были извлечены из спирта, полностью высушены, после чего инкубированы в течение 4 часов при 56 °С в 200 мкл 5 % раствора ионообменной смолы Chelex 100, содержащего протеиназу К в концентрации 0,2 мг/мл. Затем образцы были выдержаны 8 минут при 90 °С, после чего центрифугированы в течение 10 минут при 16000 g. Содержащий ДНК супернатат был перенесен в новые пробирки, которые хранили при температуре –20 °С.

Для амплификации фрагментов рибосомального оперона и митохондриальных генов были использованы праймеры и условия ПЦР, приведенные в Таблице 4. Нарботка продукта была осуществлена в реакционном растворе общим объемом 20 мкл, включающим в себя 13 мкл воды Milli-Q®, 4 мкл реакционной смеси ScreenMix-HS (Евроген) по 0,5 мкл прямого (F) и обратного (R) праймеров и 2 мкл образца ДНК. Визуализация ПЦР-продуктов была выполнена в 1 % агарозном геле, окрашенном бромидом этидия (Хеликон). Продукты были отсековированы с теми же праймерами, которые использовались при проведении ПЦР, с помощью генетического анализатора ABI Prism 3500x1. Сборка, обработка и анализ полученных последовательностей были выполнены с использованием программного обеспечения Geneious® 2021.0.2 (<https://www.geneious.com>). Для выявления повторяющихся фрагментов в сиквенсах ITS1 рДНК мы использовали плагин Repeat Finder 1.0. В тех случаях, когда повторяющиеся области препятствовали выравниванию, их исключали. Для установления границ между отсековированными элементами рибосомального оперона мы использовали аннотированную последовательность (KR703279) *Brachycladium goliath* (van Beneden, 1858) Fraija-Fernández, Aznar, Raga, Gibson & Fernández, 2014, представителя семейства Brachycladiidae (Briscoe et al., 2016). Аннотированный митохондриальный геном того же вида трематоды (KR703278) был использован для определения положения отсековированных фрагментов митохондриальных генов (*cox1* и *nad3*). Средние значения внутри- и межвидовой генетической изменчивости, выраженные как число нуклеотидных замен на сайт, и стандартная ошибка были определены с помощью программного обеспечения MEGA 11 (Tamura et al., 2021) с использованием модели максимального правдоподобия (Maximum Likelihood). Для проверки качества полученных белок-кодирующих нуклеотидных последовательностей мы транслировали их в белок, используя митохондриальный генетический код трематод (таблица трансляции 21), чтобы убедиться в отсутствии стоп-кодонов и соответствии аминокислотной последовательности ожидаемому продукту. Программное обеспечение Proveal (Choi, Chan, 2015) было использовано для выявления в транслированных последовательностях синонимичных и не синонимичных замен, а также для предсказания функционального эффекта последних.

Для построения молекулярно-филогенетических деревьев были взяты имеющиеся в базе данных GenBank последовательности 18S, 28S рДНК и *nad3* мтДНК представителей Acanthocolpidae и Brachycladiidae (Приложение, Таблица 2). Подбор оптимальной эволюционной модели для каждого выравнивания был выполнен в программе MEGA 11 с помощью алгоритма максимального правдоподобия. Анализ методом максимального правдоподобия (ML) был проведен с использованием RAxML (Stamatakis, 2014) на сервере CIPRES Science Gateway (<https://www.phylo.org>). Поддержку клад оценивали с помощью 1000 бутстрэп-псевдоповторов. Байесовский анализ был выполнен с помощью программного обеспечения MrBayes v.3.2.6 (Ronquist et al., 2012). Продолжительность анализа составила 10 000 000 генераций.

## 2.5 Статистический анализ

Для анализа морфометрических данных, полученных с тотальных препаратов, были использованы стандартные статистические методы (Quinn, Keough, 2002). Уровень значимости меньше 0,05 принимался как достоверный. Для графического представления комплексных различий и сходств между маридами, обычными и прогенетическими метацеркариями *Neophasis anarrhichae*, мы высчитали расстояния Брея-Кёртиса между измеренными особями, которые затем были использованы для построения двух графиков неметрического многомерного шкалирования (nMDS). Чтобы снизить влияние деформации образцов в процессе фиксации и изготовления тотального препарата, мы использовали площади тела и отдельных органов паразитов, рассчитанных как площади эллипсов, а не линейные размеры. Все расчеты были выполнены с использованием среды для статистического программирования R (Team RC, 2016).



**Таблица 3.** Использованные в работе изоляты Acanthocolpidae и Brachycladiidae, их происхождение и номера доступа в базе данных GenBank.

Номер изолята	Стадия жизненного цикла	Хозяин	Место сбора	18S	28S	ITS1	5.8S-ITS2	<i>cox1</i>	<i>nad3</i>
<i>Neophasis oculata</i>									
13.48s	Марита	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730773	MW750246	MW750294	MW731655	-
86.51s.1	Марита	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	MW730771	MW730774	MW750247	MW750295	MW731656	-
86.51s.2	Марита	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750248	MW750296	MW731657	-
Предположительно <i>N. oculata</i>									
56.48s	Метацеркария	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730775	-	MW750296	MW731658	-
386.51s	Метацеркария	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	Остров Большой Соловецкий (Онежский залив, Белое море)	-	-	MW750249	MW750298	MW731659	-
484.51s	Метацеркария	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	Пролив Великая Салма (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750250	MW750299	MW731660	-
542.51s	Метацеркария	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750251	MW750300	MW731661	-
15.45s	Дочерние редии, содержащие эмбрионы и церкарий	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730776	MW750252	MW750301	MW731662	-
15.47s	Дочерние редии, содержащие эмбрионы и церкарий	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750253	MW750302	MW731663	-
22.47s	Дочерние редии, содержащие эмбрионы и церкарий	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730777	-	MW750303	MW731664	-
291.48s	Дочерние редии, содержащие эмбрионы и церкарий	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730778	-	MW750304	MW731665	-

## Продолжение Таблицы 3

485.51s	Дочерние редии, содержащие эмбрионы и церкарий	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730779	MW750254	MW750305	MW731666	-
172.48s	Дочерние редии, содержащие эмбрионы и церкарий	<i>Neptunea despecta</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730780	MW750255	MW750306	-	-
327.48s	Дочерние редии, содержащие эмбрионы и церкарий	<i>Neptunea despecta</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730781	MW750256	MW750307	MW731667	-
432.51s	Дочерние редии, содержащие эмбрионы и церкарий	<i>Neptunea despecta</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730782	MW750257	MW750308	MW731668	-
534.51s	Дочерние редии, содержащие эмбрионы и церкарий	<i>Neptunea despecta</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750258	MW750309	MW731669	-
349.48s	Дочерние редии, содержащие эмбрионы и церкарий	<i>Neptunea despecta</i>	Пролив Великая Салма (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730783	MW750259	MW750310	-	-
352.48s	Дочерние редии, содержащие эмбрионы и церкарий	<i>Neptunea despecta</i>	Пролив Великая Салма (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750260	MW750311	MW731670	-
<i>Neophasis anarrhichae</i>									
149.48s	Марита	<i>Anarhichas lupus</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730784	MW750261	MW750312	-	-
504.51s.1	Марита	<i>Anarhichas lupus</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	MW730772	MW730785	MW750262	MW750313	MW731671	-
504.51s.2	Марита	<i>Anarhichas lupus</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730786	MW750263	MW750314	MW731672	-
323.51s.1	Марита	<i>Anarhichas lupus</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730787	MW750264	MW750315	MW731673	-
323.51s.2	Марита	<i>Anarhichas lupus</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730788	MW750265	MW750316	MW731674	-
146.51s.1	Марита	<i>Anarhichas lupus</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730789	MW750266	MW750317	MW731675	-

Продолжение Таблицы 3

146.51s.2	Марита	<i>Anarhichas lupus</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750267	MW750318	MW731676	-
Предположительно <i>N. anarrhichae</i>									
319.51s	Дочерние редии, содержащие эмбрионы и церкарий	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750268	MW750319	MW731677	-
259.48s	Дочерние редии, содержащие церкарий	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730790	MW750269	MW750320	MW731678	-
47.51s	Дочерние редии, содержащие церкарий	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750270	MW750321	MW731679	-
240.48s	Дочерние редии, содержащие церкарий и метацеркарий	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750271	MW750322	MW731680	-
279.51s	Дочерние редии, содержащие церкарий и метацеркарий	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750272	MW750323	MW731681	-
491.51s	Дочерние редии, содержащие метацеркарий	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750273	MW750324	MW731682	-
127.48s	Дочерние редии, содержащие «прогенетических» метацеркарий	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MW730791	MW750274	MW750325	MW731683	-
500.51s	Дочерние редии, содержащие «прогенетических» метацеркарий	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750275	MW750326	MW731684	-
Партениты неясного систематического положения, предположительно Acanthocolpidae									
444.51s	Материнская спороциста	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750276	MW750327	MW731685	-
445.51s	Материнская редия	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750277	MW750328	MW731686	-
282.51s	Материнская редия	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750278	MW750329	MW731687	-

## Продолжение Таблицы 3

292.51s	Материнская редия	<i>Buccinum undatum</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	-	MW750279	MW750330	MW731688	-
Neophasis spp., предположительно Brachycladiidae									
45.45s	Дочерние редии, содержащие эмбрионы и церкарий	<i>Cryptonatica affinis</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	MT184798	MT153595	MT184875	-	-	MT153588
M53	Метацеркария	<i>Serripes groenlandicus</i>	Остров Большой Соловецкий (Онежский залив, Белое море)	MT184800	-	-	-	-	-
189.48s	Метацеркария	<i>Serripes groenlandicus</i>	Керетский архипелаг (Кандалакшский залив, Белое море)	-	MT153593	-	-	-	MT153587
Партениты и личинки неясного систематического положения, предположительно Brachycladiidae									
M49	Дочерние редии, содержащие эмбрионы и церкарий	<i>Cryptonatica affinis</i>	Остров Большой Соловецкий (Онежский залив, Белое море)	MT184799	MT153594	MT184876	-	-	MT153589

**Таблица 4.** Используемые праймеры и условия проведения ПЦР. Во всех реакция время начальной денатурации составляло 5 минут при 95 °С, а время окончательной элонгации — 10 минут при 72 °С.

Продукт	Праймер	Последовательность (5'-3'), прямого (F) и обратного (R) праймеров	Режим реакции	Источник
18S рДНК	18S1A	F, GGCGATCGAAAAGATTAAGCCATGCA	94 °С — 1m 52 °С — 1m 72 °С — 1m × 35	Hernández-Mena et al., 2017 (праймеры и условия)
	32	R, CGAAGTCCTATTCCATTATTC		
	652	F, GCAGCCGCGGTAATTCCAGCTC		
	28	R, AGCGACGGGCGGTGTGT		
28S рДНК	dig12	F, AAGCATATCACTAAGCGG	95 °С — 30s 54 °С — 30s	Tkach et al., 1999 (праймеры и условия)
	1500R	R, GCTATCCTGAGGGAAACTTCG	72 °С — 2m × 40	Olson et al., 2003 (праймеры и условия)
ITS1 рДНК	BD1	F, GTCGTAACAAGGTTTCCGTA	95 °С — 30s 55 °С — 30s	Luton et al., 1992 (праймеры и условия)
	4S	R, TCTAGATGCGTTCGAARTGTCGATG	72 °С — 1m × 35	
5.8S+ITS2 рДНК	3S	F, GGTACCGGTGGATCACGTGGCTAGTG	94 °С — 30s 55 °С — 30s	Morgan, Blair, 1995 (праймеры)
	ITS2.2	R, CCTGGTTAGTTTCTTTTCCTCCGC	72 °С — 1m × 30	
<i>cox1</i> мтДНК	JB3	F, TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT	95 °С — 30s 50 °С — 30s	Bowles et al., 1993 (праймеры и условия)
	JB4.5	R, TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG	72 °С — 1m × 35	
<i>cox1</i> мтДНК	JB3	F, TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT	95 °С — 30s 48 °С — 40s	Leung et al., 2009 (праймеры и условия)
	trem.cox1.rml	R, AATCATGATGCAAAAGGTA	72 °С — 1m × 40	
<i>nad3</i> мтДНК	ND3F	F, GCTTAATTKKTAAGCYTTGRATTCTTACT	95 °С — 30s 50 °С — 30s	Fraija-Fernández et al., 2016 (праймеры и условия)
	ND3R	R, СТАСТАГТСССАСТСААСРТААССУТ	72 °С — 50s × 35	

### Глава 3 Жизненные циклы трематод из семейства Brachycladiidae, строение их партенит и личинок

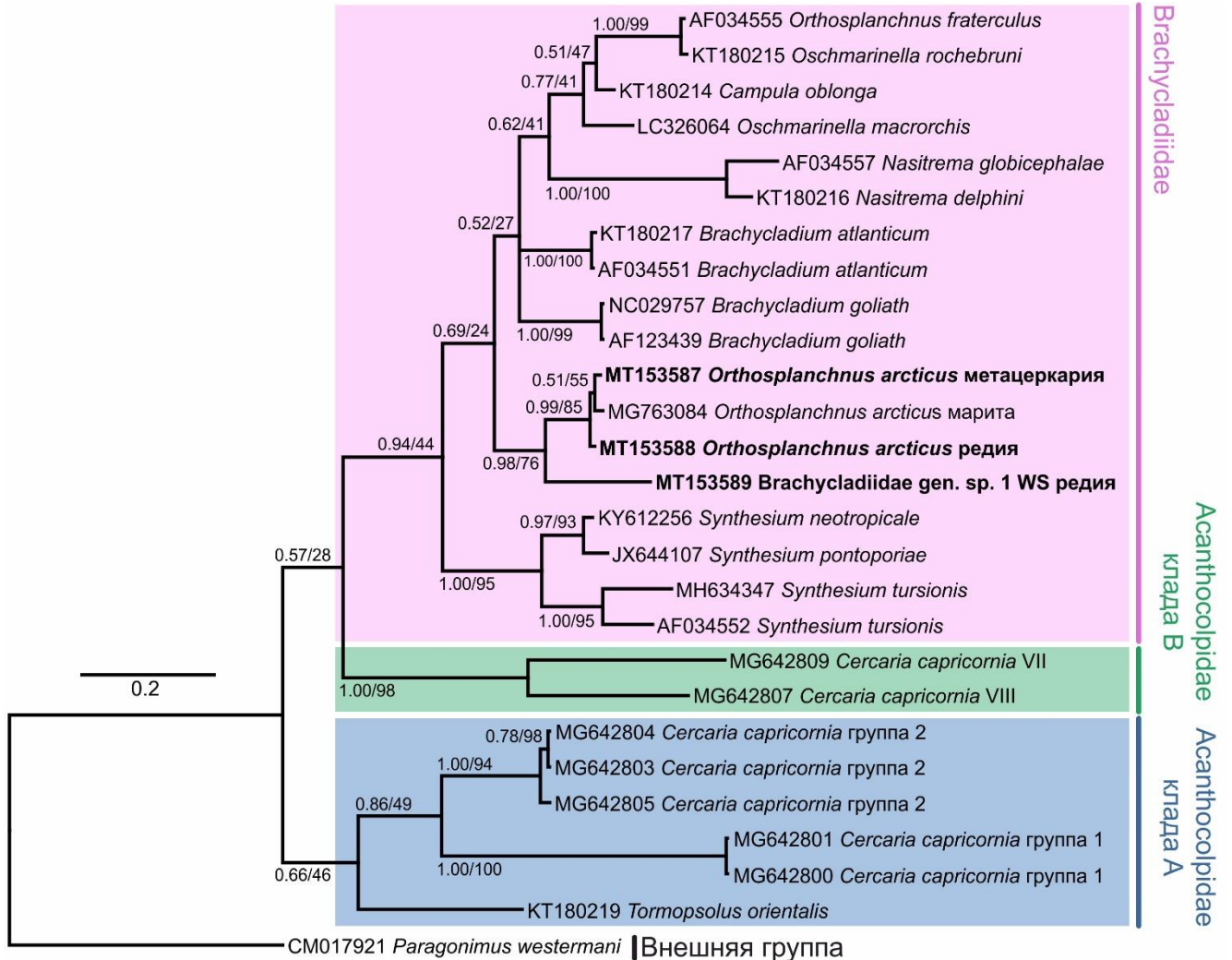
#### 3.1 Обнаружение партенит и личинок трематод семейства Brachycladiidae

Три гастроподы *Cryptonatica affinis* были заражены редиями и церкариями с парой пигментированных глаз, сходными с партенитами и личинками, описанными С.Ф. Марасаевым (1984) из *C. affinis* как *Neophasis* sp. В двустворчатых моллюсках *Serripes groenlandicus* и *Ciliatocardium ciliatum* мы обнаружили инцистированных метацеркарий с парой пигментированных глаз, сходных с личинками, которых Г.К. Чубрик (1966) описывала из двустворчатых моллюсков *Cerastoderma edule* (Linnaeus, 1758) и *Astarte crenata* (Gray, 1824) как *Neophasis oculata*. Полученные для этого материала последовательности 18S рДНК были идентичны сиквенсам мари *Orthosplanchnus arcticus* Odhner, 1905 из базы данных GenBank (MG763096–MG763100, после обрезания 9–15 пар нуклеотидов невысокого качества на 3'-конце). Полученные нами для этого материала последовательности ITS1 также были идентичны сиквенсам мари *O. arcticus* из базы данных GenBank (MG763093–MG763095, исключая неточности прочтения; последовательности MG763090–MG763092 не были включены в анализ из-за низкого качества прочтения на их 5'-конце). Таким образом, проведенный молекулярно-генетический анализ показал, что перечисленные партениты и личинки принадлежат виду *O. arcticus*, представителю семейства Brachycladiidae.

Одна гастропода *C. affinis* была заражена редиями и церкариями, весьма похожими на партенит и личинок *Neophasis oculata*, описанных Г.К. Чубрик (1966) из того же вида брюхоногого моллюска. Отличались они отсутствием пары пигментированных глаз. Полученные для данного изолята последовательности 18S рДНК и ITS1 были проанализированы в BLAST, и оказалось, что эти стадии жизненного цикла ближе всего к представителям семейства Brachycladiidae. Мы временно обозначили этих редий и церкарий как Brachycladiidae gen. sp. 1 WS (где “WS” обозначает “White Sea”, Белое море), поскольку полученные для них последовательности полностью не совпали ни с одним из депонированных в базе данных GenBank сиквенсом мари брахикладиид.

В прочих вскрытых беломорских натицидных гастроподах (24 особях *Euspira pallida* и 3 особях *Amauropsis islandica*) партениты и личинки семейства Brachycladiidae обнаружены не были.

Полученные для *O. arcticus* и Brachycladiidae gen. sp. 1 WS фрагменты рибосомального оперона (18S, 28S, ITS1 рДНК) и гена *nad3* мтДНК были депонированы в базе данных GenBank под номерами, указанными в Таблице 3. Ниже мы более детально фокусируемся на анализе последовательностей 28S рДНК и *nad3* мтДНК, поскольку по ним имеется наиболее полный для Brachycladioidea набор опубликованных данных.



**Рисунок 2.** Филогенетическое положение Brachycladiidae gen. sp. 1 WS и *Orthosplanchnus arcticus*, основанное на анализе данных *nad3* мтДНК. Молекулярно-филогенетическое дерево построено с помощью Байесовского анализа. Модель нуклеотидной замены: НКУ+G+I. Полученные нами последовательности выделены жирным шрифтом. Статистическая поддержка узлов: апостериорная вероятность/бутстрэп. Размерная шкала отражает частоту замен.

### 3.2 Анализ последовательностей *nad3* мтДНК

Секвенирование фрагмента гена *nad3* позволило получить последовательность длиной 337 пар нуклеотидов (п.н.) для всех трех образцов: редии и метацеркарии *Orthosplanchnus arcticus*, а также редии Brachycladiidae gen. sp. 1 WS. Полученные последовательности покрывали

большую часть длины гена за исключением 25 п.н. на его 3'-конце. В выравнивание мы включили 27 последовательностей разных видов акантоколпид и брахикладиид, его длина составила 332 п.н. Последовательность *Paragonimus westermani* (CM017921) из семейства Paragonimidae была добавлена в качестве внешней группы. Топология филогенетических деревьев, полученных с помощью Байесовского анализа и метода ML, оказалась практически идентичной. Дерево, полученное с помощью Байесовского анализа представлено на Рисунке 2.

Значения генетической дистанции между изолятами стадий жизненного цикла *O. arcticus* близки к нулю (Приложение, Таблица 1). Сиквенс, полученный для редии *Brachycladiidae* gen. sp. 1 WS полностью не совпал ни с одной из последовательностей, имеющих в базе данных GenBank. На полученном филогенетическом дереве *Brachycladiidae* gen. sp. 1 WS и *O. arcticus* оказались сестринскими таксонами, они вместе образуют хорошо поддержанную кладу (Рисунок 2).

Полученное филогенетическое дерево, основанное на анализе последовательностей гена *nad3*, включало три крупные клады с низкими значениями бутстреп-поддержки и апостериорной вероятности (Рисунок 2). Первая клада объединила в своем составе известные только по личинкам виды акантокольпид *Cercaria capricornia* 1 и 2 групп, а также *Tormopsolus orientalis* Yamaguti, 1934. Эту кладу мы обозначили “Acanthocolpidae клада А”. В состав второй вошли все представители семейства *Brachycladiidae*. Третья клада включала известные только по личинкам виды акантокольпид *Cercaria capricornia* VII и VIII. Эту группу акантокольпид мы обозначили “Acanthocolpidae клада В”. Сестринское положение *Brachycladiidae* и *Acanthocolpidae* клады В имело низкую поддержку.

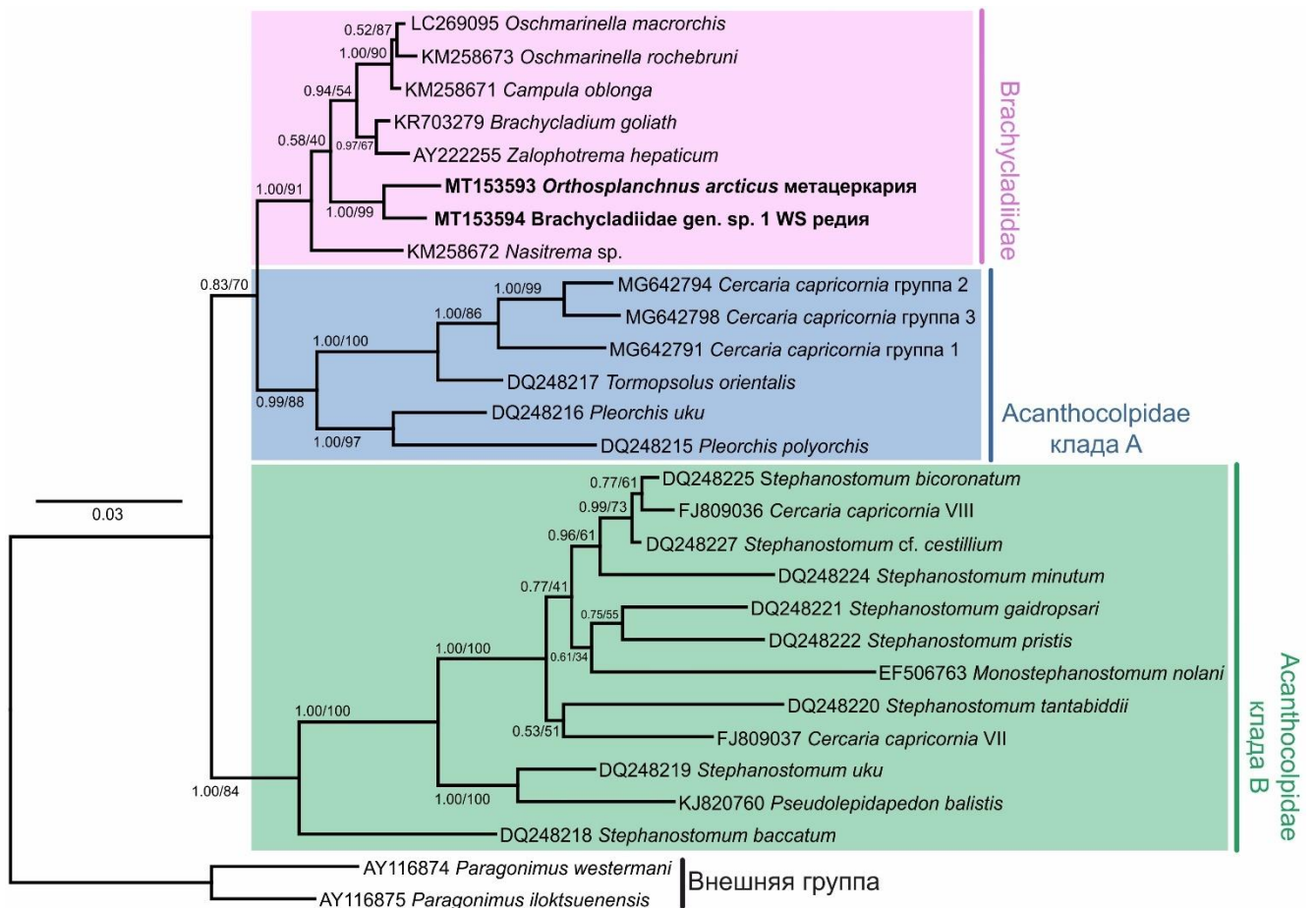
### 3.3 Анализ последовательностей 28S рДНК

Секвенирование фрагмента 28S рДНК (домены D1-D3) позволило получить последовательности длиной 1275 п.н. для метацеркарии *O. arcticus* и 1274 нуклеотидов для редии *Brachycladiidae* gen. sp. 1 WS. В выравнивание было включено 28 сиквенсов, его длина составила 1270 п.н. Последовательности *Paragonimus westermani* (AY116874) и *Paragonimus iloktsuenensis* (AY116875) были добавлены в качестве внешних групп. Топология филогенетических деревьев, полученных с помощью Байесовского анализа и метода максимального правдоподобия, была одинаковой. Филогенетическое дерево, сгенерированное с помощью Байесовского анализа, представлено на Рисунке 3.

На полученном филогенетическом дереве анализируемые трематоды представлены тремя крупными группами, каждая из которых обладает высокими значениями статистической поддержки (Рисунок 3). Первая — это *Acanthocolpidae* клада В, в состав которой вошли все

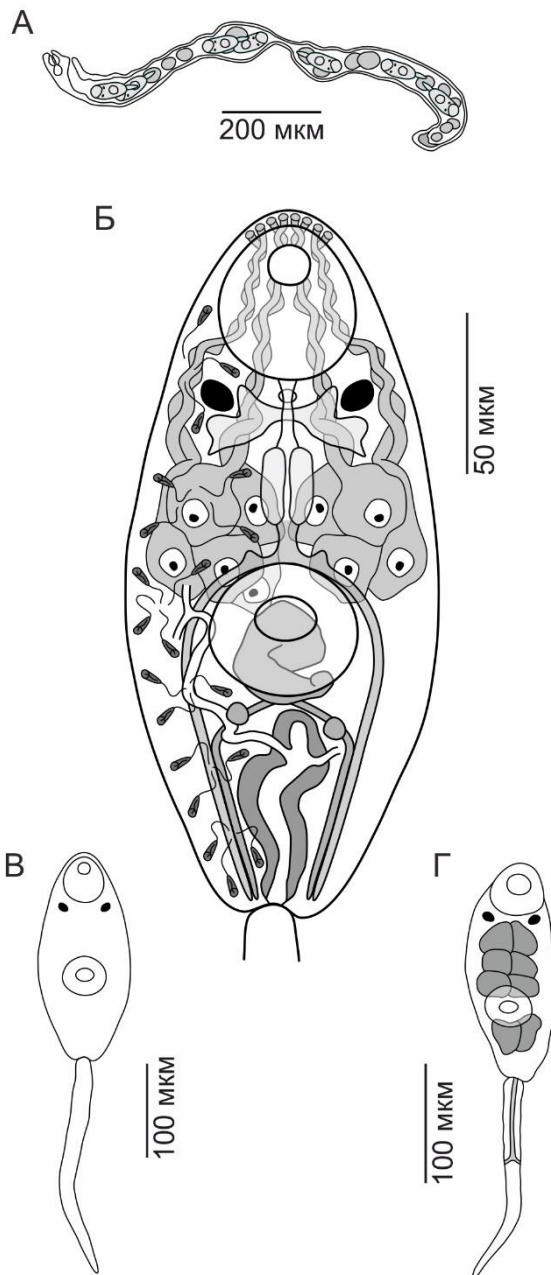


отсеквенированные виды рода *Stephanostomum*, а также виды *Monostephanostomum nolani* Bray & Cribb, 2007, *Pseudolepidapedon balistis* Manter, 1940 и известные только по личинкам *Cercaria capricornia* VII–VIII. Вторая группа включает представителей семейства Brachycladiidae. Третья группа включает оставшиеся виды акантокольпид, она обозначена нами как Acanthocolpidae клада А. В её состав вошли *Tormopsolus orientalis*, известные только по личинкам *Cercaria capricornia* 1–3 групп и два вида рода *Pleorchis* Railliet, 1896. Как и в случае анализа по гену *nad3*, *O. arcticus* и Brachycladiidae gen. sp. 1 WS оказались сестринскими видами, формирующими хорошо поддержанную кладу в пределах Brachycladiidae.



**Рисунок 3.** Филогенетическое положение Brachycladiidae gen. sp. 1 WS и *Orthosplanchnus arcticus*, основанное на анализе данных 28S рДНК. Молекулярно-филогенетическое дерево построено с помощью Байесовского анализа. Модель нуклеотидной замены: GTR+G+I. Полученные нами последовательности выделены жирным шрифтом. Статистическая поддержка узлов: апостериорная вероятность/бутстрэп. Размерная шкала отражает частоту замен.

### 3.4 Морфологические описания и данные о зараженности



**Рисунок 4.** Редия и церкария *Orthosplanchnus arcticus*: редия (А), строение сформированной церкарии (Б) и ее общий вид (В), мукоидные железы и каудальный экскреторный канал развивающейся личинки (Г).

*Редии и церкарии Orthosplanchnus arcticus* (Рисунок 4)

*Хозяин: Cryptonatica affinis* (Caenogastropoda: Littorinimorpha: Naticidae).

*Место обнаружения:* Белое море, Кандалакшский залив, Керетский архипелаг.

*Экстенсивность инвазии:* 1,1 % (3 из 275).

*Ваучерный материал:* Изогенофоры (номера от 3732-1 до 3732-5) депонированы в коллекции лаборатории паразитических червей и протистов ЗИН РАН.

*Описание:*

*Редии (Рисунок 4А)*

[Измерения сняты с 9 зафиксированных в РФА особей<sup>3</sup>.] Паразитируют в гонаде и гепатопанкреасе моллюска-хозяина. Тело удлинненное, 852 (580–1096) × 65 (57–75). У некоторых особей имеются чередующиеся перетяжки и вздутия. Ротовое отверстие расположено терминально, глотка маленькая, овальная, 24 (13–31) × 16 (12–24). Кишка округлая или овальная, очень короткая. Зародышевая полость занимает практически все пространство в теле, содержит эмбрионы церкарий на разных стадиях развития. Родильная пора и хорошо выраженный родильный канал расположены позади

<sup>3</sup> Здесь и далее все размеры приведены в микрометрах, в скобках после среднего указан разброс минимальных и максимальных значений.

глотки. Герминальная масса находится в задней части тела, погружена в паренхиму.

*Сформированные церкарии (Рисунок 4Б, В; 5)*

[Измерения сняты с 10 зафиксированных спиртом особей.] Личинка обладает ротовой и брюшной присосками, парой пигментированных глаз и простым хвостом (Рисунок 4В; 5А). Длина тела 232 (202–281), ширина — 85 (77–96). Тело овальное, передний и задний концы слегка сужены (Рисунок 4Б, В; 5А, И). Тегумент тела равномерно покрыт шипами, размер которых уменьшается к заднему концу. Хвост простой, немного длиннее тела (Рисунок 4В; 5А). Длина хвоста составляет 260 (186–314), ширина у основания — 18 (12–31).

Ротовая присоска расположена субтерминально, овальная, 47 (43–51) × 40 (36–46). Брюшная присоска округлая, 44 (39–51) × 45 (41–52), расположена ближе к заднему концу тела (Рисунок 4Б; 5А, И). Префаринкс длинный, глотка овальная, 22 (17–29) × 14 (9–17), зачаток пищевода короткий (Рисунок 4Б; 5И). Зачатки задних ветвей кишки состоят из столбика клеток и тянутся до заднего конца тела по бокам от мочевого пузыря. Имеются короткие, но различные зачатки передних ветвей кишечника (Рисунок 4Б; 5И).

Церебральный ганглий расположен дорзальнее префаринкса (Рисунок 4Б; 5К). Имеются три пары (дорзальная, вентральная и латеральная) задних продольных нервных стволов, а также соединяющие их комиссуры. Несколько пар нервов отходят от ганглия вперёд. Имеются два хорошо выраженных пигментированных глаза, расположенных дорзолатеральнее префаринкса (Рисунок 4Б; 5К). Присутствует округлая фосфотирозин-положительная структура овальной формы. Она расположена дорзомедиально на уровне пигментированных глаз, и представляет собой, по-видимому, непарный непигментированный фоторецептор (Рисунок 4Б; 5К).

В передней части тела имеется девять крупных одноклеточных желез проникновения, проток одной из них не был обнаружен (Рисунок 4Б; 5А, Д, Е). Протоки остальных восьми клеток направлены в сторону переднего конца тела, залегают дорзальнее ганглия (Рисунок 4Б; 5К). Две пары протоков расположены медиальнее пигментированных глаз, оставшиеся две пары — латеральнее (Рисунок 4Б). Каждый проток открывается собственной порой, расположенной дорзальнее переднего края ротовой присоски (Рисунок 4Б). Цистогенные железы не обнаружены.

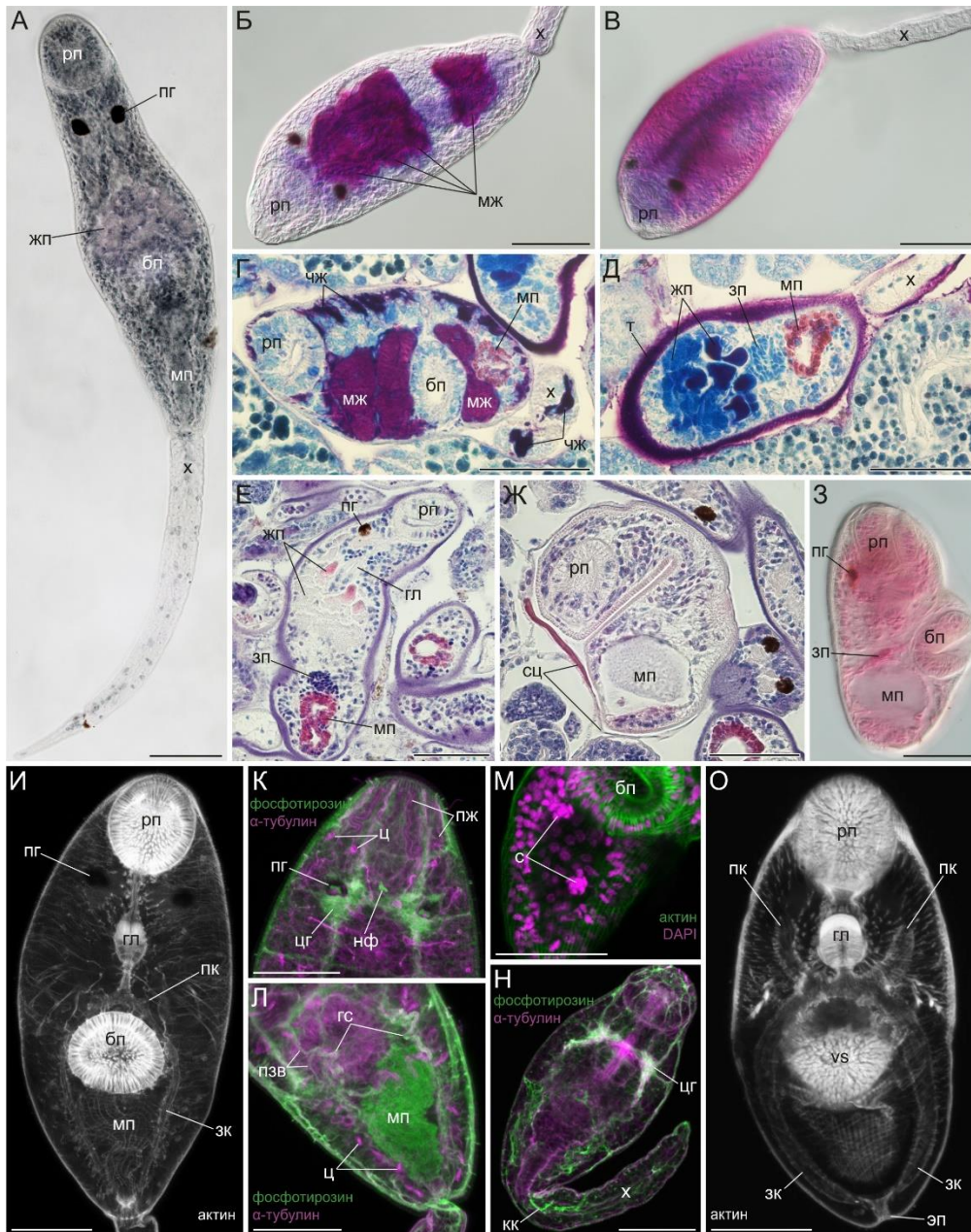
Протонефридиальная система мезостомного типа (Рисунок 4Б). Мочевой пузырь расположен в задней части тела, I-образный, когда тело вытянуто, S-образный — когда сокращено (Рисунок 4Б; 5А, И, Л). Стенки мочевого пузыря толстые, интенсивно окрашиваются эозином и антителями к фосфотирозину (Рисунок 5Г–Е, Л). Главные собирательные каналы берут начало от вентральной части переднего конца мочевого пузыря, тянутся в сторону переднего конца тела и примерно на уровне середины брюшной присоски разделяются на переднюю и заднюю ветви (Рисунок 4Б; 5Л). Экскреторная формула  $2[(3 + 4 + 4) + (3 + 3 + 3)] =$

40 (Рисунок 4Б; 5К, Л). Каудальный экскреторный канал имеется в хвосте развивающихся церкарий, но отсутствует у полностью сформированных личинок (Рисунок 4Г; 5Н).

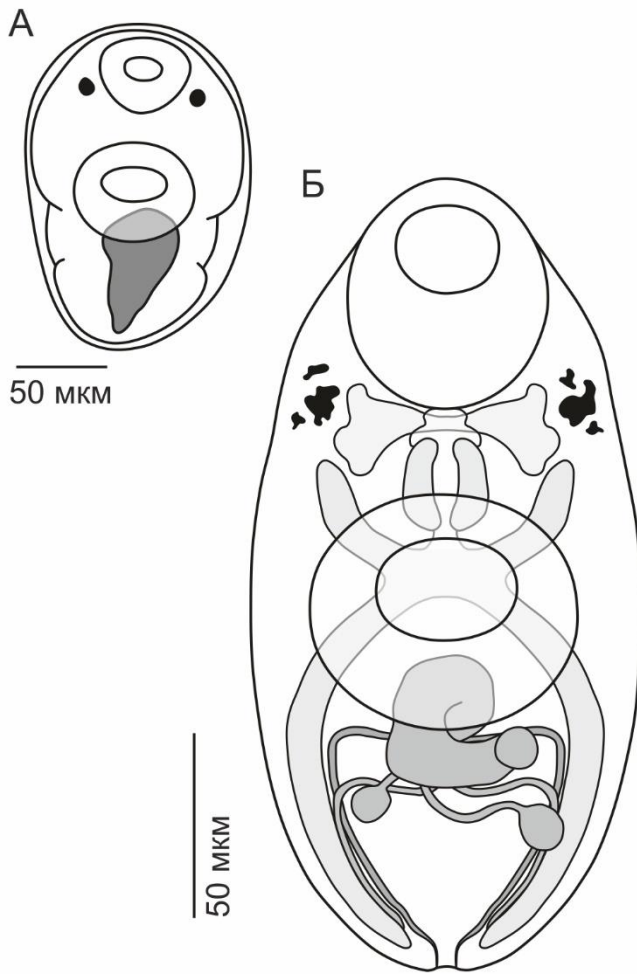
Маленькие зачатки семенников примерно одинакового размера, залегают в задней части тела слегка по диагонали (Рисунок 4Б; 5М). На уровне брюшной присоски расположена С-образно изогнутая группа клеток (Рисунок 4Б). Ее дорзальная лопасть представляет собой зачаток бурсы цирруса и дистальных участков протоков мужской половой системы. Вентральная лопасть является зачатком протоков женской половой системы (матки, оотипа и яйцевода), а также яичника, представляющего собой небольшое терминальное расширение (Рисунок 4Б). Зачатки желточников представлены двумя клеточными тяжами, берущими свое начало от дорзальной части вентральной лопасти зачатка протоков женской половой системы (Рисунок 4Б). Тяжи сначала направлены латерально, затем поворачивают в сторону заднего конца тела, где залегают вдоль зачатков задних ветвей кишечника, вплотную к ним.

#### *Особенности развития церкарий (Рисунок 4Г; 5)*

Церкарии покидают редию вскоре после закладки хвоста и пигментированных глаз. Морфогенез личинок завершается в тканях моллюска-хозяина. Метахроматически окрашенный толуидиновым синим секрет обнаружен в двух типах структур: крупных вентральных мукоидных железах (три пары клеток в преацетабулярном отделе тела и одна пара в постацетабулярном) и более мелких и многочисленных чехлообразующих железах, расположенных в дорзальной части тела и в хвосте (Рисунок 4Г; 5Б, Г). Закладка как мукоидных, так и чехлообразующих желез происходит до того, как развивающиеся церкарии покинут зародышевую полость редию. Во время заключительных этапов морфогенеза секрет мукоидных и чехлообразующих желез транспортируется в наружную синцитиальную пластинку тегумента, которая из-за этого становится утолщённой (Рисунок 5В, Д).



**Рисунок 5.** Микрофотографии церкарий и метацеркарий *Orthosplanchnus arcticus*. (А) Общий вид церкарии, окрашивание железным гематоксилином Гейденгайна. (Б – Д) Мукоидные структуры у формирующейся (Б, Г) и сформированной (В, Д) церкарии; окрашивание толуидиновым синим, тотальные препараты (Б, В) и азур II-эозином, гистологические срезы (Г, Д). (Е, Ж) Гистологические срезы зараженного моллюска *Cryptonatica affinis*, сформированная церкария (Е) и инцистированная метацеркария (Ж), окрашивание кислыми гематоксилином Эрлиха-эозином. (З) Извлеченная из цисты метацеркария из *Serripes groenlandicus*, квасцовый кармин. (И–М) Сформированная церкария, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ). (И) Окрашивание TRITC-конъюгированным фаллоидином. (К, Л) Окрашивание антителами к ацетилированному альфа-тубулину и фосфотирозину, передний (К) и задний (Л) концы тела личинки. (М) Окрашивание TRITC-фаллоидином и DAPI, задняя часть тела. (Н) Формирующаяся церкария, КЛСМ, окрашивание антителами к ацетилированному альфа-тубулину и фосфотирозину. (О) Извлеченная из цисты метацеркария из *S. groenlandicus*, КЛСМ, окрашивание TRITC-фаллоидином. Размерная шкала: 50 мкм. Сокращения: бп, брюшная присоска; гл, глотка; гс, главный собирательный канал; жп, железы проникновения; зв, задняя ветвь кишки; зп, зачаток половой системы; кк, каудальный экскреторный канал; мж, мукоидные железы; мп, мочевого пузыря; нф, непигментированный фоторецептор; пг, пигментированный глаз; пж, протоки желез проникновения; пзв, передняя и задняя ветви главного собирательного канала; пк, передняя ветвь кишки; рп, ротовая присоска; с, зачатки семенников; сц, стенка цисты; т, наружная пластинка тегумента; х, хвост; ц, циртоциты; цг, церебральный ганглий; чж, чехлообразующие железы; эп, экскреторная пора.



**Рисунок 6.** Метацеркария *Orthosplanchnus arcticus* из двустворчатого моллюска *Serripes groenlandicus*, личинка внутри цисты (А) и извлеченная из цисты (Б).

*S. groenlandicus* из Великой Салмы; 2–40 ( $25,3 \pm 3,88$ ) у *S. groenlandicus* из Онежского залива; 1–11 ( $2,8 \pm 1,6$ ) у *C. ciliatum* из Керетского архипелага; 1–7 ( $4,0 \pm 3,00$ ) у *C. affinis* из Керетского архипелага.

**Ваучерный материал:** Сингенофоры (номера от 3733-1 до 3733-3) депонированы в коллекции лаборатории паразитических червей и протистов ЗИН РАН.

**Описание:**

[Измерения сняты с пяти зафиксированных в PFA особей, и 13-ти убитых нагреванием и зафиксированных в спирте личинок.] В двустворчатых моллюсках метацеркарии локализуются преимущественно в мускулатуре внутренностного мешка, однако могут быть обнаружены и в других внутренних органах (мускуле-замыкателе, мантийной складке, сифонах, ротовых лопастях, жабрах, гепатопанкреасе, стенке кишечника). В гастроподы *C. affinis* инцистированные метацеркарии были обнаружены в гепатопанкреасе хозяина, вместе с редиями, развивающимися и сформированными церкариями *O. arcticus* (Рисунок 5Ж).

**Метацеркарии** *Orthosplanchnus arcticus*  
(Рисунок 5Ж, 3, О; 6)

**Хозяева:** (1) *Serripes groenlandicus* (Heterodonta: Cardiidae), (2) *Ciliatocardium ciliatum* (Heterodonta: Cardiidae), *Cryptonatica affinis* (Caenogastropoda: Littorinimorpha: Naticidae).

**Место обнаружения:** (1-3) Белое море, Кандалакшский залив, Керетский архипелаг, пролив Великая Салма. (1) Белое море, Онежский залив.

**Экстенсивность инвазии:** 43 % (27 из 68 *S. groenlandicus* из Керетского архипелага); 1 из 1 *S. groenlandicus* из Великой Салмы; 17 % (10 из 58 *S. groenlandicus* из Онежского залива); 15 % (6 из 39 *C. ciliatum* из Керетского архипелага); 0,7 % (2 из 275 *C. affinis* из Керетского архипелага).

**Интенсивность инвазии** (в скобках приведены среднее значение и стандартная ошибка): 1–169 ( $14,7 \pm 6,5$ ) у *S. groenlandicus* из Керетского архипелага; 1 у

Метацеркарии заключены в тонкостенную, однослойную, овальную или округлую прозрачную цисту, 167 (144–189) × 111 (72–143). Тело инцистированных метацеркарий слегка согнуто на вентральную сторону (Рисунок 5Ж; 6А).

Длина тела извлеченных из цист метацеркарий составляет 247 (170–293), ширина — 81 (51–117). Тело овальное, суженное на переднем и заднем концах (Рисунок 5О; 6Б). Тегумент равномерно покрыт небольшими шипами. Ротовая присоска расположена субтерминально, округлая, 47 (30–64) × 48 (33–62). Брюшная присоска округлая, 51 (44–60) × 53 (36–67), расположена примерно в середине тела (53, О; 6Б).

Префаринкс короткий, глотка овальная, 23 (19–30) × 24 (17–29), пищевод короткий (Рисунок 5О; 6Б). Передние ветви кишки направлены вперед, практически до передней части глотки (Рисунок 5О; 6Б). Задние ветви кишки тянутся до задней части тела, по бокам от мочевого пузыря; урпрокт отсутствует (Рисунок 5О; 6Б). Передние и задние ветви кишки состоят из двух рядов крупных, вакуолизированных клеток, просвет отсутствует.

Церебральный ганглий залегает дорзальнее префаринкса (Рисунок 6Б). Присутствуют задние продольные нервные стволы, а также несколько пар нервов, отходящих от ганглия вперед. Пигментированные глаза разобраны, пигмент в той или иной степени разбросан по паренхиме (Рисунок 6Б). Непигментированный фоторецептор не обнаружен.

Железы проникновения отсутствуют. Мочевой пузырь овальной или яйцевидной формы, объемный, залегает дорзальнее зачатка половой системы (Рисунок 5З; 6Б). Он достигает заднего края брюшной присоски у вытянутых особей, и середины брюшной присоски у нерасправившихся (Рисунок 5З; 6Б). Стенки мочевого пузыря тонкие (Рисунок 5Ж, 3; 6Б). Просвет мочевого пузыря живой личинки заполнен непрозрачными округлыми гранулами. Экскреторная формула не установлена.

Зачаток половой системы более дифференцирован, чем у церкарии (Рисунок 6Б). Четко различимы зачатки семявыносящих канальцев. Зачатки семенников увеличиваются в размерах. Четко выявляется небольшой зачаток яичника и зачаток Лаурерова канала. Зачатки прочих элементов мужской и женской половых систем остаются примерно на том же этапе формирования, что и на стадии церкарии.

*Редии и церкарии Brachycladiidae gen. sp. 1 WS (Рисунок 7; 8)*

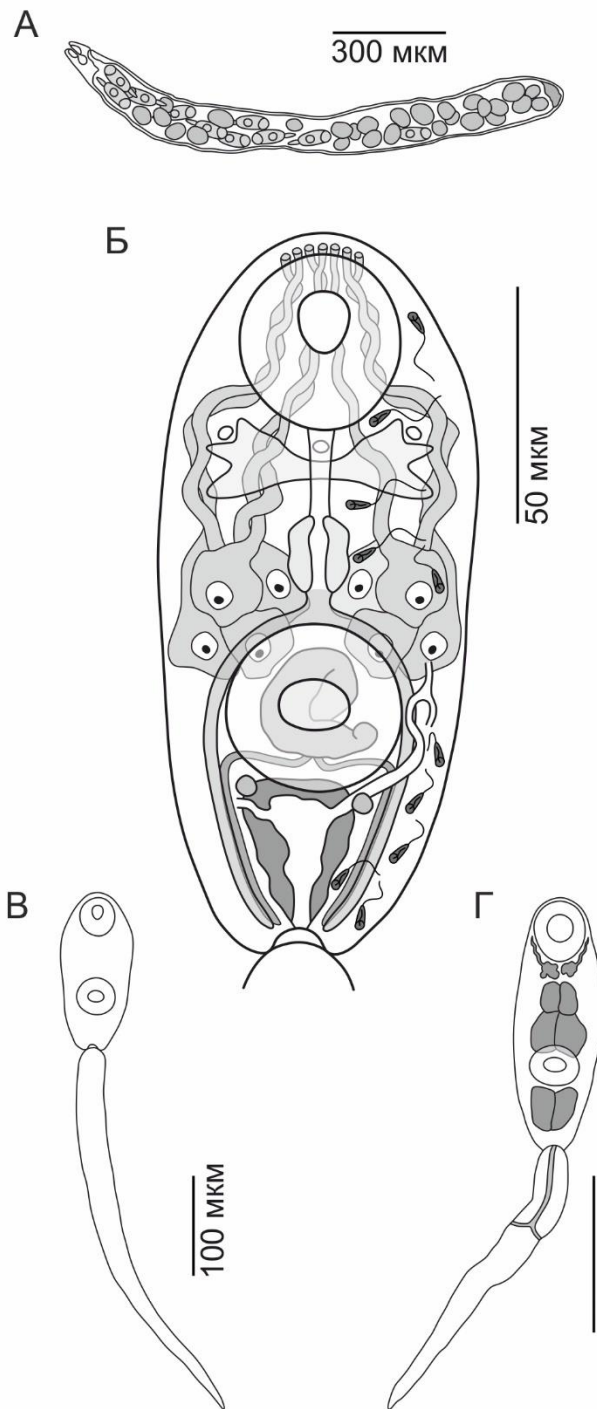
*Хозяин: Cryptonatica affinis (Caenogastropoda: Littorinimorpha: Naticidae).*

*Место обнаружения:* Белое море, Онежский залив.

*Экстенсивность инвазии:* 16,7 % (1 из 6).

*Ваучерный материал:* Изогенофоры (номера от 3734-1 до 3734-5) депонированы в коллекции лаборатории паразитических червей и протистов ЗИН РАН.

*Описание:*



**Рисунок 7.** Редия и церкария *Brachycladiidae* gen. sp. 1 WS: редия (А), строение сформированной церкарии (Б) и ее общий вид (В), мукоидные железы и каудальный экскреторный канал развивающейся личинки (Г).

7В; 8А). Длина хвоста составляет 398 (343–452), ширина у основания — 24 (20–29).

Ротовая присоска расположена субтерминально, овальная, 42 (32–49) × 32 (26–36). Брюшная присоска округлая, 34 (25–44) × 31 (24–40), расположена ближе к заднему концу тела (Рисунок 7Б, В; 8А).

### *Редии (Рисунок 7А)*

[Измерения сняты с девяти зафиксированных раствором Шаудина особей.] Паразитируют в гонаде и гепатопанкреасе моллюска-хозяина. Тело удлинненное, 921 (533–1323) × 84 (72–112). Ротовое отверстие расположено терминально, глотка маленькая, овальная, 22 (17–29) × 24 (19–27). Кишка округлая или овальная, очень короткая, 20 (15–24) × 20 (14–30). Зародышевая полость занимает практически все пространство в теле, содержит эмбрионы церкарий на разных стадиях развития. Родильная пора и хорошо выраженный родильный канал расположены позади глотки. Герминальная масса находится в задней части тела, погружена в паренхиму.

### *Сформированная церкария (Рисунок 7Б, В, 8)*

[Измерения сняты с 10 зафиксированных раствором Шаудина особей.] Личинка обладает ротовой и брюшной присосками и простым хвостом (Рисунок 7В). Длина тела 168 (144–185), ширина — 52 (44–58). Тело маленькое, его передний и задний концы слегка сужены (Рисунок 7Б, В; 8А). Тегумент тела равномерно покрыт шипами, размер которых уменьшается к заднему концу. Хвост простой, в 2,3–2,5 раза длиннее тела (Рисунок



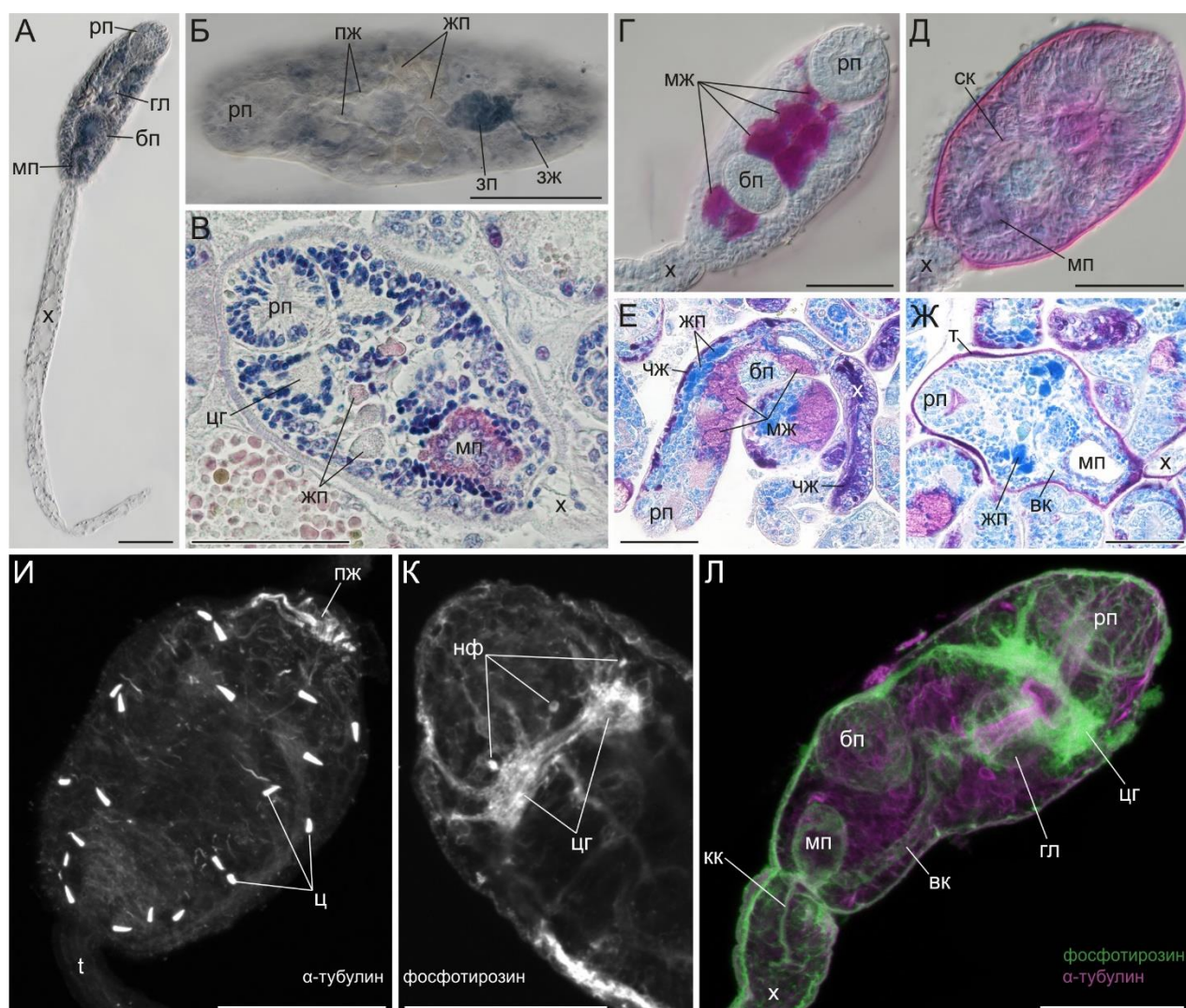
Префаринкс длинный, глотка овальная, 17 (11–23) × 13 (9–17), зачаток пищевода короткий (Рисунок 7Б; 8). Зачатки ветвей кишки состоят из столбика клеток и тянутся до заднего конца тела по бокам от мочевого пузыря (Рисунок 7Б; 8Л). Зачатки передних слепых ветвей кишки не были выявлены.

Церебральный ганглий расположен дорзальнее префаринкса (Рисунок 7Б; 8К, Л). Имеются три пары (дорзальная, вентральная и латеральная) задних продольных нервных стволов, а также соединяющие их комиссуры. Несколько пар нервов отходят от ганглия вперёд. Пигментированные глаза отсутствуют. Позади ротовой присоски расположены три фосфотирозин-положительные структуры (вероятно, непигментированные глаза). Два из них залегают дорзолатерально, третий — дорзомедиально (Рисунок 7Б; 8К).

В передней части тела имеется восемь крупных одноклеточных желез проникновения, проток одной из них не был обнаружен (Рисунок 7Б; 8Б, В). Протоки остальных семи клеток направлены в сторону переднего конца тела, залегают дорзальнее ганглия (Рисунок 7Б). Три протока расположены медиальнее непигментированных фоторецепторов, оставшиеся четыре — латеральнее (Рисунок 7Б). Каждый проток открывается собственной порой, расположенной дорзальнее переднего края ротовой присоски (Рисунок 7Б; 8И). Цистогенные железы не обнаружены.

Протонефридиальная система мезостомного типа (Рисунок 7Б). Мочевой пузырь расположен в заднем конце тела, обладает I-образной формой, когда тело вытянуто, слегка изогнутой — когда сокращено (Рисунок 7Б; 8А). Стенки мочевого пузыря толстые, интенсивно окрашиваются эозином (Рисунок 8В). Главные собирательные каналы направлены в сторону переднего конца тела и примерно на уровне середины брюшной присоски разделяются на переднюю и заднюю ветви (Рисунок 7Б). Экскреторная формула  $2[(2 + 1 + 2) + (2 + 1 + 2)] = 20$  (Рисунок 7Б; 8И). Каудальный экскреторный канал имеется в хвосте развивающихся церкарий, но отсутствует у полностью сформированных личинок (Рисунок 7Г; 8Л).

Маленькие зачатки семенников одинакового размера, залегают в задней части тела слегка по диагонали (Рисунок 7Б). На уровне брюшной присоски расположена С-образно изогнутая группа клеток (Рисунок 8Б). Ее дорзальная лопасть представляет собой зачаток бурсы цирруса и дистальных участков протоков мужской половой системы (Рисунок 7Б). Вентральная лопасть является зачатком протоков женской половой системы (матки, оотипа и яйцевода), а также яичника, представляющего собой небольшое терминальное расширение (Рисунок 7Б). Зачатки желточников представлены двумя клеточными тяжами, берущими свое начало от дорзальной части вентральной лопасти зачатка протоков женской половой системы (Рисунок 8Б). Тяжи сначала направлены латерально, затем поворачивают в сторону заднего конца тела, где залегают вдоль зачатков задних ветвей кишечника, вплотную к ним (Рисунок 7Б; 8Б).



**Рисунок 8.** Микрофотографии церкарий *Brachycladiidae* gen. sp. 1 WS. (А, Б) Тотальные препараты, окрашивание железным гематоксилином Гейденгайна, общий вид (А) и детали внутреннего строения (Б). (В) Фронтальный гистологический срез через церкарию, окрашивание кислыми гематоксилином Эрлиха-эозином. (Г–Ж) Мукоидные структуры у формирующейся (Г, Е) и сформированной (Д, Ж) церкарии; окрашивание толуидиновым синим, тотальные препараты (Г, Д) и азур II-эозином, гистологические срезы (Е, Ж). (И, К) Сформированная церкария, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ). (И) Окрашивание антителами к ацетилированному альфа-тубулину. (К) Окрашивание антителами к фосфотирозину, передняя часть тела. (Л) Формирующаяся церкария, КЛСМ, окрашивание антителами к ацетилированному альфа-тубулину и фосфотирозину. Размерная шкала: 50 мкм. Сокращения: бп, брюшная присоска; вк, ветвь кишки; гл, глотка; жп, железы проникновения; зж, зачаток желточников; зп, зачаток половой системы; кк, каудальный экскреторный канал; мж, мукоидные железы; мп, мочевого пузыря; нф, непигментированные фоторецепторы; пж, протоки желез проникновения; рп, ротовая присоска; т, наружная пластинка тегумента; х, хвост; ц, циртоциты; цг, церебральный ганглий; чж, чехлообразующие железы.

#### *Особенности развития церкарий (Рисунок 7Г, 8)*

Церкарии покидают редий недоразвитыми, вскоре после закладки хвоста. Морфогенез личинок завершается в тканях моллюска-хозяина. Мукоидные субстанции обнаружены в двух типах структур: вентральных мукоидных железах (три пары клеток в преацетабулярном отделе тела и одна пара в постацетабулярном) и чехлообразующих железах, расположенных в дорзальной части тела и хвоста (Рисунок 7Г; 8Г, Е). Закладка как мукоидных, так и

чехлообразующих желез происходит после того, как развивающиеся церкарии покинули зародышевую полость редии. Во время заключительных этапов морфогенеза секрет мукоидных и чехлообразующих желез транспортируется в наружную пластинку тегумента, которая становится утолщённой (Рисунок 8Д, Ж).

### 3.5 Обсуждение

Анализ последовательностей фрагментов рибосомального оперона (18S рДНК, ITS1) и гена *nad3* мтДНК, а также основанная на *nad3* филогенетическая реконструкция, однозначно показали, что редии и церкарии с пигментированными глазами из *Cryptonatica affinis* и метацеркарии из двустворчатых моллюсков являются стадиями жизненного цикла *Orthosplanchnus arcticus* из семейства Brachycladiidae. Ближайшим родственником *O. arcticus*, согласно полученным результатам, являются редии и церкарии Brachycladiidae gen. sp. 1 WS, также паразитирующие в *C. affinis*. Значения генетической дистанции между изолятами этих видов, в целом, соответствуют межвидовым различиям в пределах одного рода у прочих представителей Brachycladiidae (Приложение, Таблица 1). Из этого можно заключить, что Brachycladiidae gen. sp. 1 WS, возможно, принадлежит роду *Orthosplanchnus*. Существует и альтернативное объяснение. Поскольку только для видов рода *Cetitrema* или *Odhneriella* в базе данных GenBank отсутствуют сиквенсы гена *nad3* мтДНК, редии и церкарии Brachycladiidae gen. sp. 1 WS могут принадлежать кому-то из этих брахикладиид.

Нами впервые идентифицированы партениты и церкарии брахикладиид, ниже мы приводим их краткую общую характеристику. Первый промежуточный хозяин — гастроподы семейства Naticidae. Церкарии развиваются в редиях. Ротовая присоска расположена субтерминально. Хвост простой. Тегумент тела равномерно покрыт шипами. Пищеварительная система представлена префаринксом, глоткой, коротким зачатком пищевода и зачатками задних ветвей кишечника. В передней части тела имеется 8-9 желез проникновения, снабженные 7-8 протоками. Протонефридиальная система мезостомного типа. Мочевой пузырь толстостенный, I-образной формы, если тело церкарии расправлено. Экскреторная формула представлена шестью первичными группами циртоцитов, количество мерцательных клеток внутри групп может варьировать. Каудальный экскреторный канал имеется в хвосте во время эмбрионального развития, исчезает у полностью сформированной церкарии. Зачаток половой системы устроен сложно. Церкарии покидают редий на ранних этапах своего развития, их морфогенез завершается в тканях моллюска-хозяина. Развивающиеся церкарии обладают четырьмя парами мукоидных желез и многочисленными чехлообразующими железами в теле и хвосте.

В Таблице 5 мы сравнили нескольких церкарий, которые используют гастроподу *C. affinis* в качестве первого промежуточного хозяина и обладают сходным строением. Среди них два представителя семейства Brachycladiidae, *O. arcticus* и Brachycladiidae gen. sp. 1 WS (Brachycladiidae), описанные Г.К. Чубрик (1966) личинки *Neophasis oculata*, а также описанные С.Ф. Марасаевым (1984) личинки *Neophasis* sp. и *Cercaria cryptonatica* Marasaev, 1984. Весьма вероятно, что личинки последних трех видов тоже на самом деле принадлежат семейству Brachycladiidae, поскольку они обладают целым рядом морфологических признаков, сходных с церкариями *O. arcticus* и Brachycladiidae gen. sp. 1 WS, поэтому далее их названия мы будем приводить в кавычках (Таблица 5). Церкарии “*Neophasis* sp.” морфологически наиболее близки *O. arcticus* и, скорее всего, принадлежат тому же виду. Церкарии “*N. oculata*” описанные Г.К. Чубрик (1966) морфологически ближе к Brachycladiidae gen. sp. 1 WS. Церкарии *Cercaria cryptonatica* и Brachycladiidae gen. sp. 1 WS также обладают сходством строения, однако различаются устройством пищеварительной системы, размерами тела и хвоста, числом первичных групп циртоцитов.

**Таблица 5.** Биологические признаки церкарий *Orthosplanchnus arcticus* и Brachycladiidae gen. sp. 1 WS, относящихся семейству Brachycladiidae и церкарий “*Neophasis oculata*”, “*Neophasis* sp.” и *Cercaria cryptonatica*, предположительно принадлежащих семейству Brachycladiidae. Все размеры приведены в микрометрах. В скобках после среднего указан разброс минимальных и максимальных значений. Звездочкой отмечены данные, полученные после пересмотра тотальных препаратов Г.К. Чубрик, хранящихся в коллекции кафедры Зоологии беспозвоночных СПбГУ.

	<i>Orthosplanchnus arcticus</i>	“ <i>Neophasis</i> sp.” (Марасаев, 1984)	“ <i>Neophasis oculata</i> ” (Чубрик, 1966)	Brachycladiidae gen. sp. 1 WS	<i>Cercaria cryptonatica</i> (Марасаев, 1984)
Первый промежуточный хозяин	<i>Cryptonatica affinis</i>	<i>Cryptonatica affinis</i>	<i>Cryptonatica affinis</i>	<i>Cryptonatica affinis</i>	<i>Cryptonatica affinis</i>
Развиваются в редиях	+	+	+	+	+
Длина тела	232 (202–281)	320–380	160–270	168 (144–185)	290–340
Ширина тела	85 (77–96)	120–140	60–90	52 (44–58)	80–110
Хвост	Простой	Простой	Простой	Простой	Простой
Длина хвоста	260 (186–314)	310–370	440–570	398 (343–452)	440–600
Ширина хвоста	18 (12–31)	?	?	24 (20–29)	?
Шипы тегумента	По всему телу	Только в передней части тела	По всему телу*	По всему телу	По всему телу
Расположение ротовой присоски	Субтерминально	Субтерминально	Субтерминально	Субтерминально	Субтерминально
Расположение брюшной присоски	Близко к центру тела	Близко к центру тела	Ближе к задней части тела	Ближе к задней части тела	Ближе к задней части тела

Продолжение Таблицы 5

Префаринкс	Длинный	Длинный	Длинный*	Длинный	Длинный
Глотка	Овальная	Овальная	Овальная*	Овальная	Овальная
Зачаток пищевода	Короткий	Короткий	Короткий*	Короткий	Длинный
Зачатки задних ветвей кишечника	Длинные	-	Длинные*	Длинные	Короткие
Передние ветви кишечника	Короткие	-	-*	-	-
Пигментированные глаза	+	+	+	-	-
Непигментированный глаз(а)	+	?	?	+	?
Число желез проникновения	Девять	От восьми до десяти	Восемь*	Восемь	Восемь
Расположение желез проникновения	В передней части тела	В передней части тела	В передней части тела*	В передней части тела	В передней части тела
Число протоков	Восемь	Восемь	Семь*	Семь	Восемь
Выделительная система	Мезостомная	Мезостомная	Мезостомная	Мезостомная	Мезостомная
Мочевой пузырь	Толстостенный, I-образный	Толстостенный, мешковидный	Толстостенный, I-образный	Толстостенный, I-образный	Толстостенный, мешковидный
Экскреторная формула	$2[(3+4+4) + (3+3+3)] = 40$	$2[(3+3+3) + (3+3)] = 30$	?	$2[(3+2) + (2+3)] = 20$	$2[(3+2) + (2+3)] = 20$
Развитие церкарии завершается в тканях хозяина	+	?	+	+	?
Время закладки пигментированных глаз	До выхода личинки из редии	До выхода личинки из редии	После выхода личинки из редии	-	-
Мукоидные железы	+	?	+*	+	?

Один из очень ярких морфологических признаков, общих для церкарий *O. arcticus* и *Brachycladiidae* gen. sp. 1 WS — это наличие непигментированных фоторецепторов. Ранее непарный непигментированный фоторецептор был обнаружен только у церкарий *Cryptocotyle lingua* (Creplin, 1825) Fischoeder, 1903 из семейства *Opisthorchiidae* (Rees, 1975). Используя трансмиссионную электронную микроскопию, Г. Рис показала, что его ультратонкое строение аналогично имеющимся у церкарии пигментированным глазам, за исключением отсутствия в «пигментной» клетке гранул меланина. Тирозин выступает в качестве предшественника для синтеза меланина у многоклеточных животных в целом (см. обзор Sugumaran, 2002) и у церкарий трематод — в частности (Nadakal, 1960). Именно поэтому мы интерпретируем положительно окрашиваемые антителами к фосфотирозину округлые структуры у церкарий брахикладиид как

фоторецепторы. Мы предполагаем, что непигментированные фоторецепторы *O. arcticus* и *Brachycladiidae* gen. sp. 1 WS, как и в случае церкарий *C. lingua*, аналогичны по своему строению пигментированным глазам, но в своем развитии они никогда не достигают той стадии, когда в них будет содержаться меланин.

Наличие мукоидных структур у церкарий *Brachycladioidea* показано нами впервые. Ранее Г.Ф. Миллер и Ф.И. Норфап (Miller, Northup, 1926) описали три пары вентральных желез у *Cercaria dipteroerca*, считающейся церкарией вида *Stephanostomum dentatum* (Linton, 1900) Manter, 1931 из семейства *Acanthocolpidae*, однако эти авторы не использовали специфические красители, которые могли бы выявить мукоидные субстанции. Мукоидные структуры церкарий брахикладиид представлены четырьмя парами мукоидных желез на вентральной стороне тела и чехлообразующими железами на дорзальной стороне тела и в хвосте. Такой паттерн является уникальным: прочие *Xiphidiata* и *Opistorchiata* обладают либо четырьмя парами вентральных мукоидных желез (Щенков и др., 2019), либо мукоидными железами и чехлообразующими железами в теле, но не хвосте (Galaktionov, Malkova, 1994). За пределами этих двух отрядов трематод, как считается, мукоидные структуры отсутствуют (Щенков и др., 2019).

Метацеркарии *O. arcticus*, обнаруженные нами в двустворчатых моллюсках семейства *Cardiidae*, сходны с личинками, описанными Г.К. Чубрик (1966) из двустворчатых моллюсков *Cerastoderma edule* и *Astarte crenata*, которых она отнесла виду *N. oculata*. Стоит упомянуть, однако, о двух различиях: личинки “*N. oculata*” по Г.К. Чубрик, крупнее метацеркарий *O. arcticus*, а у последних имеются передние слепые ветви кишечника, не отмеченные Г.К. Чубрик. Тем не менее, мы считаем, что метацеркарии “*N. oculata*”, описанные Г.К. Чубрик (1966), также относятся к брахикладидам, вероятнее всего — к виду *O. arcticus*.

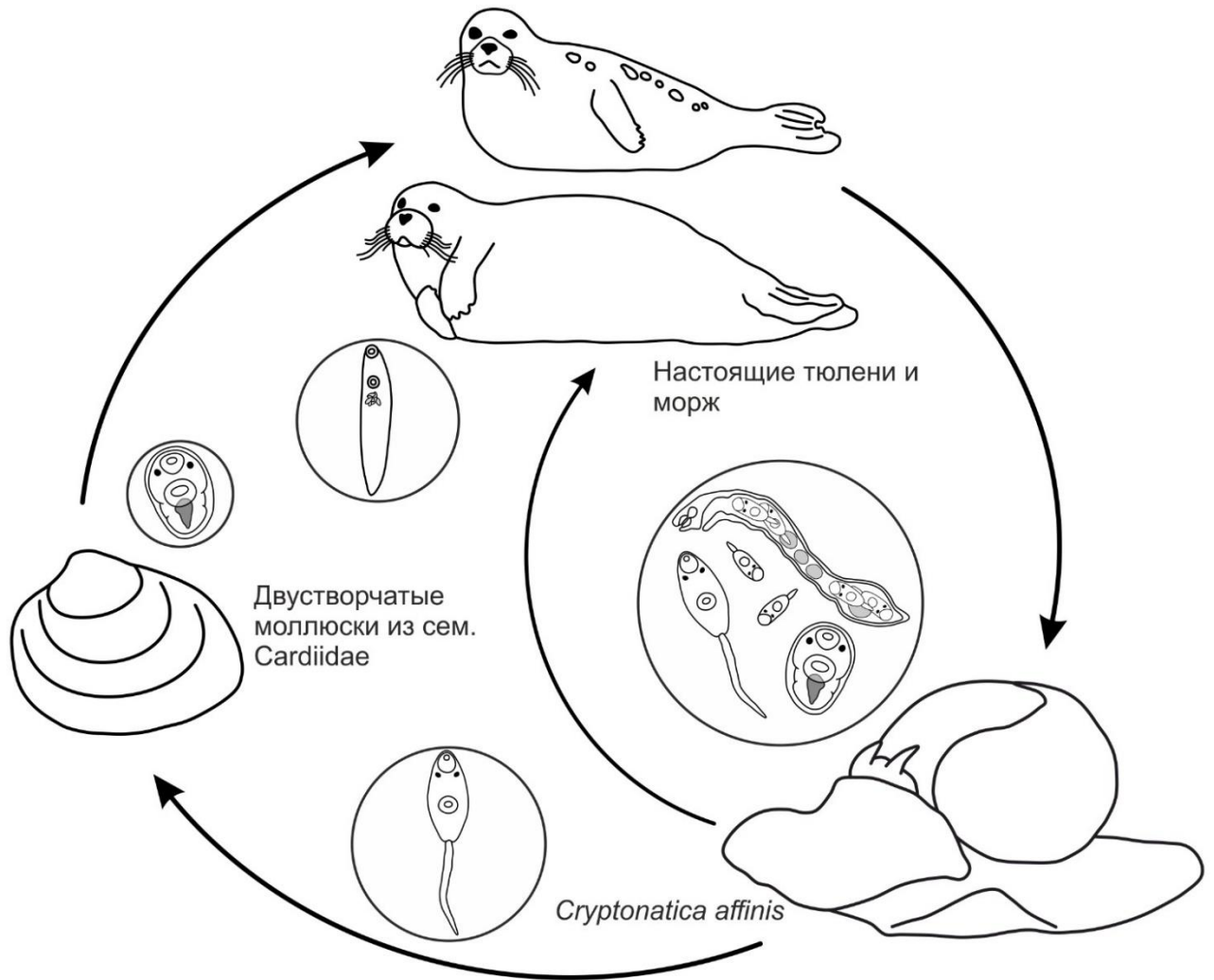
Используя относительно полный для *Brachycladioidea* набор данных по 28S рДНК, мы выявили в составе этого таксона три монофилетические группы (Рисунок 3): (1) *Brachycladiidae*; (2) *Cercaria capricornia* групп 1-3 *Pleorchis polyorchis*, *P. uku* и *Tormopsolus orientalis* (обозначена нами *Acanthocolpidae* клада А); (3) *Cercaria capricornia* VII и VIII, *Monostephanostomum nolani*, *Pseudolepidapedon balistis* и виды рода *Stephanostomum* (обозначена нами *Acanthocolpidae* клада В). Как и в подавляющем большинстве предыдущих исследований, в нашей реконструкции *Brachycladiidae* и *Acanthocolpidae* клада А оказались сестринскими группами, однако эти отношения не обладают высокой статистической поддержкой (Bray et al., 2005; Curran, Pulis, 2014; Fraija-Fernández et al., 2015). Немного иная реконструкция представлена в работе Л.Дж. Барнетт и Т. Миллера, однако следует отметить, что взаимоотношения между *Brachycladiidae* и *Acanthocolpidae* клады А в этом исследовании оказались неразрешенными (Barnett, Miller, 2018).

Полученная нами филогенетическая реконструкция, основанная на анализе гена *nad3*, не идет вразрез с прочими недавними исследованиями, в которых взаимоотношения внутри

Brachycladioidea были реконструированы с использованием того же молекулярного маркера (Fraija-Fernández et al., 2016; Nakagun et al., 2018; Shiozaki et al., 2019). Тем не менее, получившееся у нас молекулярно-филогенетическое дерево показало альтернативную группировку таксонов внутри Brachycladioidea, поскольку сестринской группой брахикладидам оказались Acanthocolpidae клады В (Рисунок 2). Однако следует принимать во внимание, что значения статистической поддержки во многих узлах были слишком низкими, поэтому сам по себе ген *nad3* мтДНК вряд ли может считаться подходящим маркером для выяснения филогенетических взаимосвязей таксонов внутри Brachycladioidea.

Тем не менее, два момента, касающихся анализа данных *nad3* мтДНК, заслуживают более детального рассмотрения. В первую очередь мы бы хотели обратить внимание на то, что последовательности фрагмента этого гена видов *Orthosplanchnus fraterculus* Odhner, 1905 и *Oschmarinella rochebruni* (Poirier, 1886) Gibson & Bray, 1997 практически идентичны. Различия между двумя последовательностями не превышают уровень внутривидовой изменчивости, установленный для прочих видов брахикладиид (Приложение, Таблица 1). Это можно интерпретировать двумя способами: либо видовая идентификация отсеквенированной особи *Or. fraterculus* была проведена некорректно, либо *Or. fraterculus* и *Os. rochebruni* являются одним и тем же видом. Альтернативное объяснение (не корректная идентификация отсеквенированной особи *Os. rochebruni*) представляется нам маловероятным, на что указывает положение на филогенетическом дереве других видов родов *Orthosplanchnus* и *Oschmarinella* (Рисунок 2).

Кроме того, Л.Дж. Барнетт и Т.Л. Миллер предположили, что наличие альтернативного старт-кодона (GTG) в гене *nad3* у представителей Brachycladiidae и Acanthocolpidae клады В отражает филогенетическое родство этих трематод (Barnett, Miller, 2018). Однако, как следует из нашего выравнивания, у одного из видов Acanthocolpidae клады А, *Tormopsolus orientalis*, старт-кодон в гене *nad3* также альтернативный (GTG). Следовательно, наличие этого признака вряд ли может быть использовано в качестве аргумента в пользу сестринских взаимоотношений между Brachycladiidae и Acanthocolpidae клады В.



**Рисунок 9.** Схема жизненного цикла *Orthosplanchnus arcticus*. По Kremnev et al., 2020, с изменениями.

Предлагаемая схема жизненного цикла *O. arcticus* представлена на Рисунке 9. Его окончательными хозяевами (см. обзор в Andersen-Ranberg et al., 2018) являются различные виды ластоногих: лахтак *Erignathus barbatus* (Erxleben, 1777) (типовой хозяин), гренландский тюлень *Pagophilus groenlandicus* (Erxleben, 1777), кольчатая нерпа *Pusa hispida* (Schreber, 1775), обыкновенный тюлень *Phoca vitulina* Linnaeus, 1758, полосатый тюлень *Histiophoca fasciata* Zimmermann, 1783, хохлач *Cystophora cristata* (Erxleben, 1777) и морж *Odobenus rosmarus* (Linnaeus, 1758). Из всех перечисленных видов морских млекопитающих, в Белом море самыми многочисленными являются лахтак и кольчатая нерпа (Svetocheva, Svetochev, 2015), они же, по-видимому, и выступают в качестве основных окончательных хозяев *O. arcticus* в этой акватории.

Первым промежуточным хозяином *O. arcticus* является ценогастропода *C. affinis* (Littorinimorpha: Naticidae). Редии развиваются в гепатопанкреасе и гонаде моллюска. Сформированные церкарии покидают *C. affinis* и заражают второго промежуточного хозяина, в качестве которого выступают двустворчатые моллюски. Молекулярно верифицированы нами



только образцы из *S. groenlandicus*, однако спектр вторых промежуточных хозяев в Белом море может быть более широким, поскольку морфологически сходных небольших инцистированных метацеркарий с парой пигментированных глаз находили и у других видов бивальвий: *C. ciliatum* (наши данные), *Arctica islandica* (Linnaeus, 1767), *Nuculana pernula* (O. F. Müller, 1779) и *Mya truncata* Linnaeus, 1758 (В.А. Крапивин, личное сообщение). Примечательно, что некоторые церкарии не покидают первого промежуточного хозяина, а инцистируются в гепатопанкреасе и гонаде гастроподы *C. affinis*, где становятся метацеркариями. Это позволяет *O. arcticus* факультативно сокращать пути своей циркуляции и реализовывать вторично диксенный вариант жизненного цикла, в котором гастропода *C. affinis* одновременно выступает в роли и первого, и второго промежуточного хозяина.

Заражение окончательных хозяев происходит в результате поедания двустворчатых моллюсков или гастропод *C. affinis*, содержащих инцистированных метацеркарий. Это косвенно подтверждается литературными данными о питании тюленей. Лахтак является бентофагом с широким пищевым спектром, включающим в себя не только двустворчатых моллюсков, таких как *S. groenlandicus*, *Ciliatocardium* spp., *Nuculana* spp., но также гастропод, в т.ч. представителей семейства Naticidae (Lowry et al., 1980; Antonelis et al., 1994; Hjelset et al., 1999; Svetocheva, Svetochev, 2015). Кольчатая нерпа питается, в основном, различными рыбами и ракообразными, однако двустворчатые моллюски также представлены в ее диете в качестве незначительного компонента (Holst et al., 2001; Labansen et al., 2007; Chambellant et al., 2013; Svetocheva, Svetochev, 2015).

Как мы уже обсуждали, Brachycladiidae gen. sp. 1 WS может принадлежать какому-то виду рода *Orthosplanchnus*, *Cetitrema* или *Odhneriella*. Представители *Cetitrema* spp. были отмечены только из китообразных тропических или субтропических регионов (Скрябин, 1970; Dailey, 2007). *Orthosplanchnus sudarikovi* Treshchev, 1966 и *Orthosplanchnus albamarinus* Treshchev, 1968<sup>4</sup> были отмечены в Белом море в качестве паразитов белухи, *Delphinapterus leucas* (Pallas, 1776). В белухах, обитающих в Баренцевом и Карском морях, паразитирует еще один вид — *Odhneriella arctica* (Delyamure and Kleinenberg, 1958) Yamaguti, 1971. Примечательно, что зараженный Brachycladiidae gen. sp. 1 WS моллюск был выловлен недалеко от острова Большой Соловецкий, в окрестностях которого белухи регулярно собираются для производства на свет потомства (Krasnova et al., 2014). Это позволяет заключить, что именно белуха потенциально может выступать в качестве одного из окончательных хозяев Brachycladiidae gen. sp. 1 WS.

---

<sup>4</sup> Д.И. Гибсон и Р.А. Брэй (Gibson, Bray, 1997) перенесли этот вид в род *Oschmarinella* в новой комбинации *Oschmarinella albamarina* (Treshchev, 1968) Gibson & Bray, 1997. Основанием послужило высказанное ранее предположение, что представители рода *Orthosplanchnus* паразитируют исключительно в ластоногих (Adams, Rausch, 1989). Такая таксономическая перестановка кажется нам достаточно искусственной и нуждается в проверке молекулярно-генетическими методами.

Еще одно предположение о видовой принадлежности *Brachycladiidae* gen. sp. 1 WS может быть высказано, исходя из результатов недавно опубликованной работы (Kim et al., 2023). На представленном в ней молекулярно-филогенетическом дереве, основанном на анализе последовательностей 28S рДНК, *Brachycladiidae* gen. sp. 1 WS оказался сестринским видом к *Synthesium seymouri* (Price, 1932) Marigo, Vicente, Valente, Measures & Santos, 2008, паразиту белухи. Оба этих вида являются сестринскими по отношению к *O. arcticus* и все вместе образуют монофилетическую кладу (Kim et al., 2023). Любопытно, что почти все остальные включенные в анализ виды рода *Synthesium* Stunkard & Alvey, 1930, в том числе типовой вид *Synthesium tursionis* (Marchi, 1873) Stunkard & Alvey, 1930, образуют на представленных филогенетических реконструкциях самостоятельную ветвь (Kim et al., 2023), что указывает на полифилию этого рода брахикладиид. Таксономическая история “*Synthesium seymouri*” была достаточно насыщенной. Исходно этот вид был описан из кишечника белухи (Price, 1932), добытой у побережья Аляски, в составе ныне упраздненного рода *Hadwenius* Price, 1932. Впоследствии его перевели в состав рода *Odhneriella*, откуда он был, наконец, перемещен в род *Synthesium* (Скрябин, 1948; Marigo et al., 2008). Появившиеся молекулярно-генетические данные показали, что последний номенклатурный акт оказался преждевременным (Kim et al., 2023). Таким образом, опираясь на совокупность косвенных свидетельств, мы предполагаем, что окончательным хозяином *Brachycladiidae* gen. sp. 1 WS, скорее всего, выступает белуха, и что вместе с видом “*Synthesium seymouri*” они, вероятно, принадлежат роду *Odhneriella*.

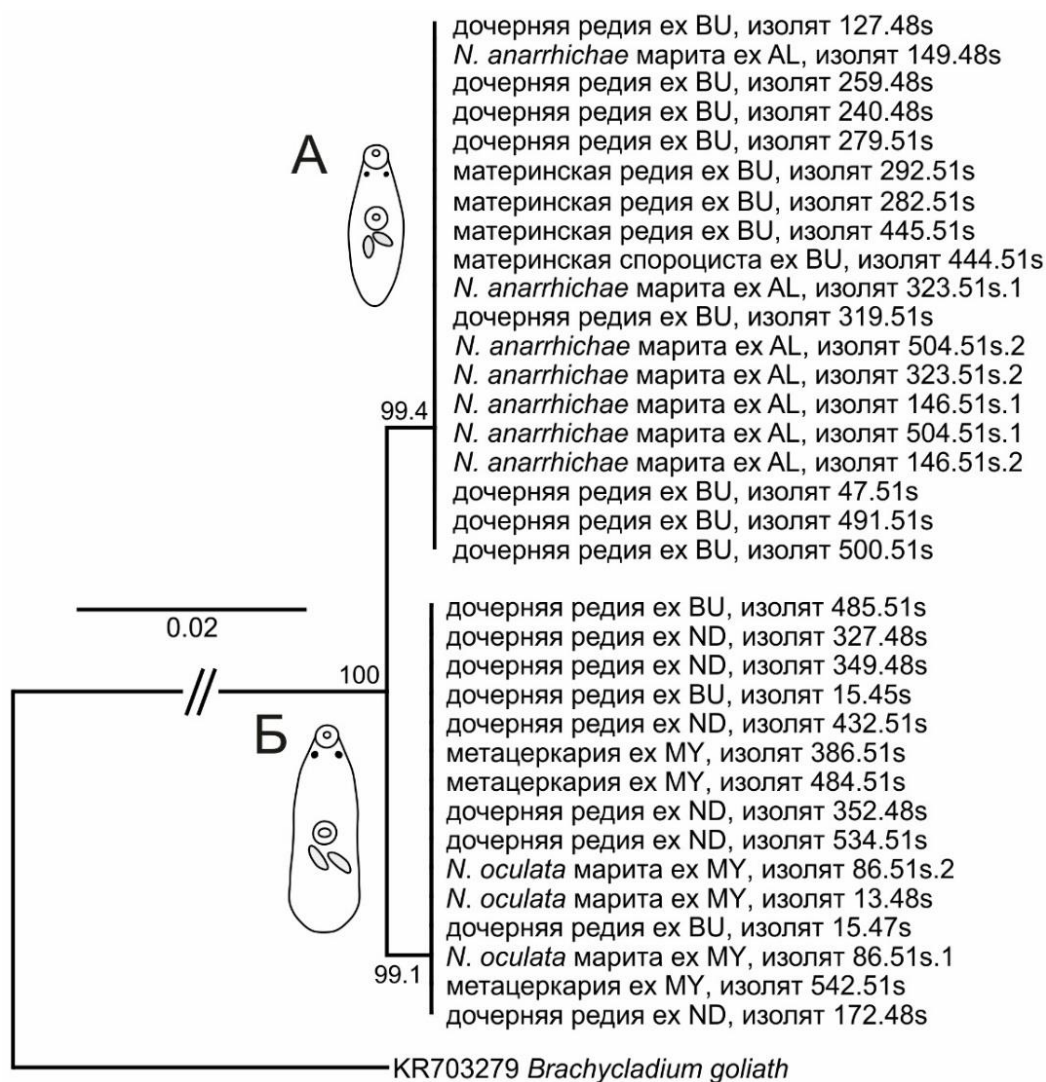
## Глава 4 Жизненные циклы трематод из семейства Acanthocolpidae, строение их партенит и личинок

### 4.1 Предварительная идентификация стадий жизненного цикла *Neophasis* spp.

Мариты акантокольпид, которых по морфологии можно было однозначно определить как *Neophasis oculata* и *N. anarrhichae*, были обнаружены в европейском керчаке *Myoxocephalus scorpius* и полосатой зубатке *Anarrhichas lupus*, соответственно. Найденные в керчаке метацеркарии с парой пигментированных глаз были предварительно отнесены виду *N. oculata*, поскольку это единственный известный для Белого моря представитель акантокольпид, инцистирующийся в рыбах (Догель, Розова, 1941). Множество случаев заражения дочерними редиями акантокольпид было найдено в брюхоногом моллюске *Buccinum undatum*, и несколько — в *Neptunea despecta*, другом представителе семейства Buccinidae. Все изученные особи *B. scalariforme* оказались не заражены дочерними редиями акантокольпид. Подавляющее большинство обнаруженных в *B. undatum* партенит и личинок Acanthocolpidae соответствовали описанным в литературе редиям, церкариям и метацеркариям *N. anarrhichae* (Lebour, 1910; Чубрик, 1966; Кюе, 1969). Однако в нескольких зараженных букцинумах и во всех зараженных нептунеях мы нашли дочерних редий, в зародышевой полости которых находились акантокольпидные церкарии, обладающие более крупными пигментированными глазами. Мы предположили, что они могут принадлежать виду *N. oculata*. Наконец, в нескольких особях букцинумов мы обнаружили материнских спороцист и материнских редий неизвестного вида трематод и предположили, что они также могут принадлежать семейству Acanthocolpidae.

### 4.2 Молекулярно-генетические данные и расшифровка жизненных циклов

Чтобы проверить нашу предварительную, морфологическую идентификацию и связать разные стадии жизненного цикла между собой, мы выделили ДНК из 37 изолятов (Таблица 3). Для этого материала мы секвенировали фрагменты рибосомального оперона и митохондриального гена *cox1*, полученные последовательности были загружены в базу данных GenBank (номера доступа указаны в Таблице 3).



**Рисунок 10.** Консенсусное дерево объединения соседей, основанное на конкатенированном наборе данных длиной 860 п.н. (фрагменты ITS1 и ITS2), построенное с помощью метода генетической дистанции Тамура-Ней и 1000 бутстрэп-псевдоповторов. Значения статистической поддержки указаны в узлах. Участок ITS1, содержащий повторы был исключен из анализа. Размерная шкала отражает частоту замен. Анализируемые группы представляют собой разные стадии жизненного цикла, определенные как или предположительно относящиеся видам *Neophasis anarrhichae* (А) и *N. oculata* (Б), номера изолятов те же, что и в Таблице 3. Последовательность *Brachycladium goliath* использована в качестве внешней группы. Сокращения: AL, *Anarrhichas lupus*; BU, *Buccinum undatum*; MY, *Myoxocephalus scorpius*; ND, *Neptunea despecta*. По Kremnev et al., 2021, с изменениями.

Для всех 37 образцов мы получили последовательности фрагмента длиной 493 пар нуклеотидов (п.н.), содержащего участок 5.8S рДНК, весь ITS2 и начало 28S рДНК. Единственное имевшееся различие между образцами было отмечено в позиции 99 (5.8S рДНК). По этой нуклеотидной замене четко расхопились мариты, определенные по своему строению как *N. oculata* (А) и *N. anarrhichae* (Т). Различия между этими видами также имелись в отсеквенированных фрагментах 18S рДНК. Эти последовательности были получены для одного изолята марит каждого вида, *N. oculata* (1707 п.н.) и *N. anarrhichae* (1636 п.н.), и различались они

между собой двумя нуклеотидными заменами. Кроме того, различия между *N. oculata* и *N. anarrhichae* были выявлены в регионе ITS1. Из 34 полученных последовательностей ITS1, длина 15-ти составила 925 п.н., а длина оставшихся 19-ти составила 831 п.н. 5'-конец всех последовательностей ITS1 содержал повторяющиеся фрагменты длиной 47 п.н. Различия в длине продуктов обусловлены разным количеством повторов: девятью в случае *N. oculata* и семью у *N. anarrhichae*. Кроме того, эти виды различались восемью нуклеотидными заменами в последовательности ITS1, пять из которых расположены внутри региона, содержащего повторы, а три оставшиеся — за его пределами.

Все упомянутые выше различия в рибосомальном опероне были непротиворечивы и позволили нам разделить наши образцы на две группы. В первую вошли все мари́ты, определенные по особенностям строения как *N. anarrhichae* (7 изолятов), дочерние редии из обыкновенных букцинумов, предположительно относящиеся *N. anarrhichae* (8 изолятов), а также обнаруженные в обыкновенных букцинумах материнская спороциста (1 изолят) и материнские редии (3 изолята). Вторую группу составили все мари́ты, определенные по особенностям строения как *N. oculata* (3 изолята), метацеркарии из керчаков (4 изолята) и дочерние редии из обыкновенных букцинумов и нептуней (11 изолятов). Внутри этих двух групп изменчивость по рибосомальным маркерам отсутствовала. Кроме того, для 19-ти изолятов из этих двух групп нами был секвенирован фрагмент 28S рДНК длиной 1263–1270 п.н. (Таблица 3). Сравнение полученных последовательностей не показало каких-либо различий не только внутри двух групп, но и между ними. Резюмируя, мы выявили небольшие, но согласующиеся межвидовые генетические различия в рибосомальном опероне между *N. oculata* и *N. anarrhichae*, а также связали стадии жизненного цикла из промежуточных хозяев с мари́тами из окончательных хозяев для обоих видов (Рисунок 10).

Мы попробовали амплифицировать фрагмент гена *cox1* для изолятов *N. anarrhichae*, используя пару праймеров JB3/JB4.5; длина полученных последовательностей составила 387–406 п.н. Эти последовательности оказались идентичными, более того, у них был обнаружен сдвиг рамки считывания, возникший в результате делеции двух нуклеотидов (ТТ). В результате полученные сиквенсы не могли быть транслированы в функциональную аминокислотную последовательность. Мы предположили, что этой парой праймеров нами была секвенирована ядерная копия митохондриального гена (“numt”; Blasco-Costa et al., 2016). Эти последовательности не были включены в дальнейший анализ, однако одну из них мы загрузили в базу данных GenBank под номером доступа MW740397. Используя другую пару праймеров, JB3/trem.cox1.rn1, мы получили последовательности, длина которых у изолятов от обоих видов после обрезания составила 770 п.н. Эти сиквенсы не содержали стоп-кодона, транслировались в белок и были включены в итоговое выравнивание.

Выравнивание 16-ти последовательностей *cox1*, полученных для *N. oculata*, выявило восемь полиморфных сайтов. Среднее значение внутривидовой генетической изменчивости составило  $0,0030 \pm 0,0013$  замен на позицию в выравнивании или 0,3 %. Семь нуклеотидных замен были синонимичными; функциональный эффект двух аминокислотных замен в позициях 217 (Ile→Thr) и 248 (Phe→Leu) был предсказан как нейтральный. Выравнивание 18-ти последовательностей *cox1*, полученных для *N. anarrhichae*, выявило 12 полиморфных сайтов. Среднее значение внутривидовой генетической изменчивости составило  $0,0040 \pm 0,0016$  замен на позицию в выравнивании или 0,4 %. Восемь нуклеотидных замен были синонимичными; функциональный эффект четырех аминокислотных замен в позициях 107 (Met→Thr), 172 (Ile→Val), 218 (Val→Ala) и 248 (Leu→Phe) был предсказан как нейтральный. Среднее значение межвидовой генетической изменчивости между изолятами *N. anarrhichae* и *N. oculata* составило  $0,1573 \pm 0,0887$  замен на позицию в выравнивании, или 15,73 %. Поскольку среднее значение межвидовой генетической изменчивости значительно превышает значения внутривидовой, не остается никаких сомнений, что мы имеем дело с двумя самостоятельными видами.

### 4.3 Морфологические описания и данные о зараженности

*Редии и церкарии Neophasis oculata* (Рисунок 11; 12)

*Место обнаружения:* Белое море; Керетский архипелаг, пролив Великая Салма (Кандалакшский залив).

*Хозяева:* *Viscinum undatum*, *Neptunea despecta*.

*Локализация:* Гонада и гепатопанкреас.

*Экстенсивность инвазии:* 0,2 % (5 из 1993 *V. undatum* из Керетского архипелага); 4,95 % (5 из 101 *N. despecta* из Керетского архипелага); 23 % (3 из 13 *N. despecta* из Великой Салмы).

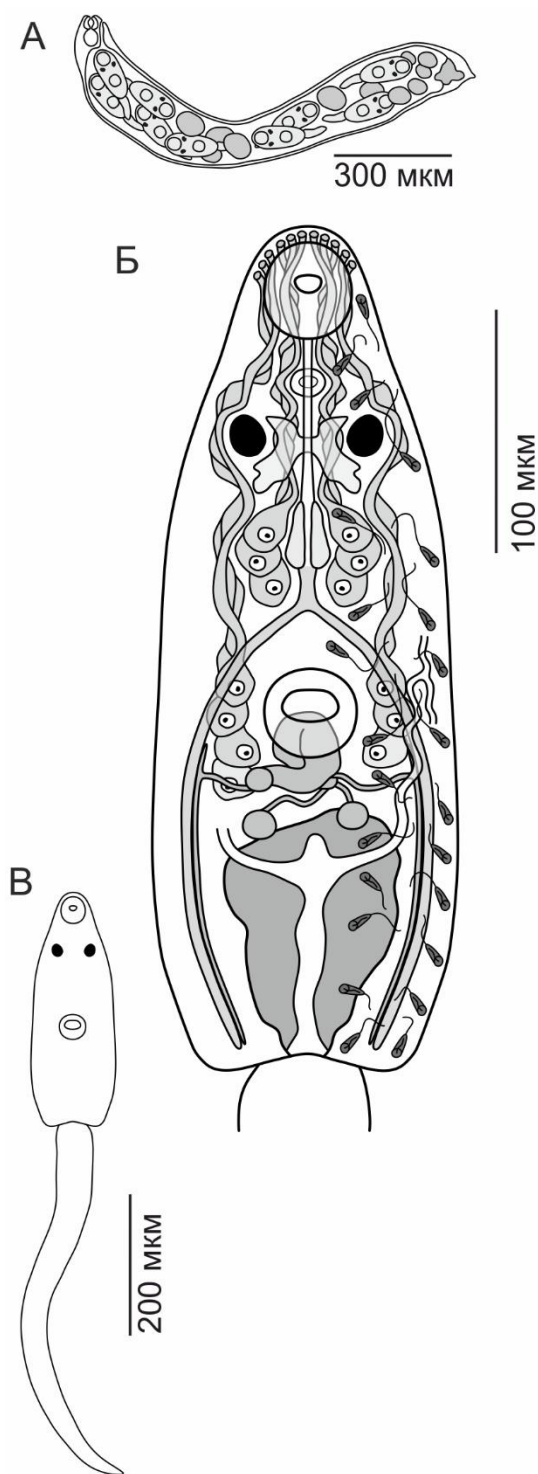
*Ваучерный материал:* Изогенофоры, соответствующие изолятам 15.47s, 22.47s и 172.48s, депонированы в коллекции Кафедры зоологии беспозвоночных Санкт-Петербургского государственного университета под номерами NO006–NO011.

*Описание:*

*Дочерние редии* (Рисунок 11А)

[Измерения сняты с 20 зафиксированных в растворе сулемы с уксусной кислотой особей; 10 особей из *V. undatum* и 10 особей из *N. despecta*<sup>5</sup>.] Паразитируют в гонаде и гепатопанкреасе хозяина. Тело вытянутое, колбасовидное, 1345 (828–1964) × 181 (133–251). Задний конец тела

<sup>5</sup> Здесь и далее в этом разделе все размеры приведены в микрометрах, в скобках после среднего указан разброс минимальных и максимальных значений.



**Рисунок 11.** Дочерняя редия и церкария *Neophasis oculata*: дочерняя редия (А), строение сформированной церкарии (Б) и ее общий вид (В).

обычно заострен. Ротовое отверстие расположено терминально, глотка маленькая, овальная,  $44 (35-51) \times 35 (18-48)$ . Кишка овальная, короткая,  $65 (33-111) \times 32 (24-46)$ . Зародышевая полость занимает практически все пространство в теле, содержит эмбрионы церкарий на разных стадиях развития. Родильная пора и её канал расположены позади глотки. Герминальная масса находится в задней части тела, погружена в паренхиму.

#### *Сформированные церкарии (Рисунок 11Б, В; 12)*

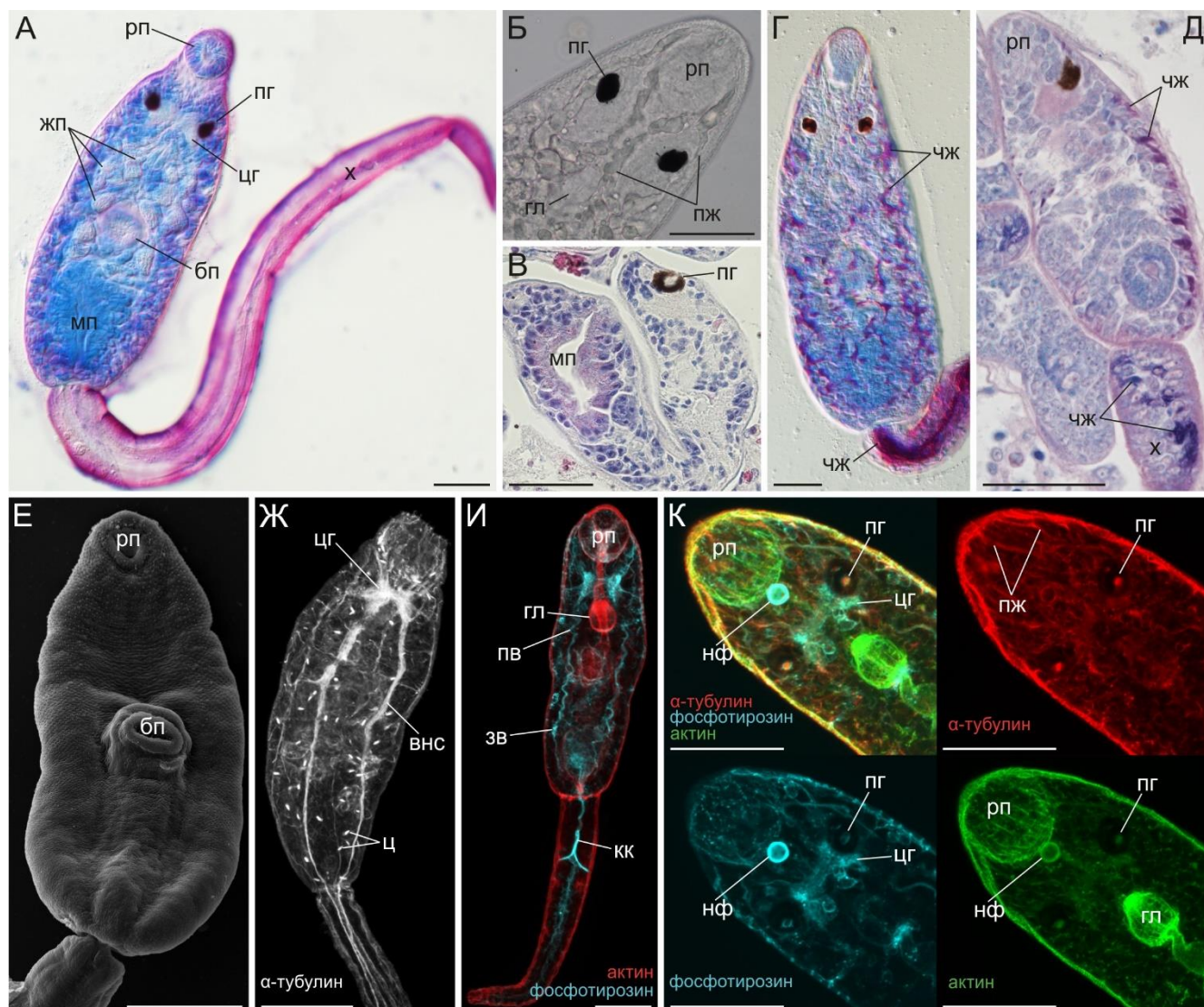
[Измерения сняты с 20 зафиксированных в растворе сулемы с уксусной кислотой особей.] Личинка обладает ротовой и брюшной присосками, парой пигментированных глаз и простым хвостом (Рисунок 11В). Длина тела  $356 (245-504)$ , ширина —  $116 (90-139)$ . Тело бутылковидное, со слегка расширенным задним и суженным передним концами (Рисунок 11Б, В; 12А, Е). Тегумент тела равномерно покрыт шипами игловидной формы (Рисунок 12Е). Шипы более крупные и густо посаженные в передней части тела, и более мелкие и редко посаженные в его задней части (Рисунок 12Е). Хвост простой, почти в полтора раза длиннее тела (Рисунок 11В; 12А). Длина хвоста составляет  $524 (260-826)$ , ширина у основания —  $46 (33-52)$ . Ротовая присоска расположена субтерминально, овальная,  $46 (35-58) \times 40 (34-48)$ . Брюшная присоска округлая,  $42 (33-50) \times 40 (35-47)$ , расположена практически в центре тела, слегка сдвинута в сторону его задней части (Рисунок 11Б,

В; 12А, Е). Отношение ротовой и брюшной присосок составляет  $1:0,93 (0,67-1,23)$ . Префаринкс длинный, глотка грушевидная или овальная,  $24 (21-26) \times 14 (11-18)$ , зачаток пищевода короткий (Рисунок 11Б; 12Б, И, К). Зачатки ветвей кишки состоят из столбика клеток и тянутся до заднего

конца тела по бокам от мочевого пузыря (Рисунок 11Б). Церебральный ганглий расположен дорзальнее префаринкса (Рисунок 11Б; 12А, Ж). Имеется два крупных, округлых, пигментированных глаза, расположенных дорзолатеральнее префаринкса (Рисунок 11Б; 12А–В, К). Присутствует округлая фосфотирозин-положительная структура (Рисунок 12К). Она расположена дорзомедиально, впереди от пигментированных глаз и представляет собой, по-видимому, непарный непигментированный фоторецептор (Рисунок 11Б; 12К). Эта структура также окрашивается TRITC-фаллоидином (Рисунок 12К). Церкария обладает 13 небольшими одноклеточными железами проникновения, собранными в две группы (Рисунок 11Б; 12А). Передняя группа состоит из шести клеток, расположенных в передней части тела по бокам от глотки; протоки этих желез направлены в сторону переднего конца тела и залегают медиальнее пигментированных глаз (Рисунок 11Б; 12А, Б). Задняя группа составлена семью клетками, расположенными по бокам и чуть позади брюшной присоски; только для пяти желез этой группы были обнаружены протоки, которые направлены в сторону переднего конца тела и залегают латеральнее тел желез передней группы и пигментированных глаз (Рисунок 11Б; 12А, Б). Каждый проток открывается собственной порой, расположенной дорзальнее переднего края ротовой присоски, всего имеется 11 пор (Рисунок 11Б). Цистогенные железы не обнаружены. Мочевой пузырь расположен в задней части тела, объемный, I-образный, слегка ассиметричный; иногда принимает Y-образную форму из-за вздутия проксимальных участков главных собирательных каналов (Рисунок 11Б; 12А, В). Стенки мочевого пузыря толстые, окрашиваются эозином (Рисунок 12В). Протонефридиальная система мезостомного типа (Рисунок 11Б, 12И). Главные собирательные каналы разделяются на переднюю и заднюю ветви примерно на уровне переднего края брюшной присоски (Рисунок 11Б, 12И). Экскреторная формула  $2[(4 + 4 + 4) + (4 + 4 + 4)] = 48$  (Рисунок 11Б, 12Ж). Каудальный экскреторный канал имеется в хвосте развивающихся церкарий, но отсутствует у полностью сформированных личинок (Рисунок 12И). Небольшие зачатки семенников залегают в задней части тела, слегка по диагонали; задний семенник несколько крупнее переднего (Рисунок 11Б). На уровне брюшной присоски и чуть позади нее залегают зачаток половой системы, состоящий из двух лопастей (Рисунок 11Б). Дорзальная лопасть представляет собой зачаток бурсы цирруса и дистальных участков протоков мужской половой системы (Рисунок 11Б). Ее задняя часть и зачатки семенников связаны двумя зачатками семявыносящих канальцев (Рисунок 11Б). Вентральная лопасть является зачатком протоков женской половой системы (Рисунок 11Б). В ее составе можно различить зачатки матки, оотипа, Лаурерова канала и яйцевода (Рисунок 11Б). В задней части вентральной лопасти находится небольшой округлый зачаток яичника (Рисунок 11Б). От дорзальной части зачатка женской половой системы отходят зачатки желточников, имеющие H-образную форму и представленные



двумя клеточными тяжами (Рисунок 11Б). Тяжи направлены латерально, достигнув ветвей кишечника, они разделяются на короткую переднюю и длинную заднюю ветви (Рисунок 11Б).



**Рисунок 12.** Церкарии *Neophasis oculata*. (А) Сформированная церкария, общее строение и муциновый секрет в тегументе, тотальный препарат, окрашивание толуидиновым синим, дифференциально-интерференционный контраст (ДИК). (Б) Протоки желез проникновения у живой церкарии. (В) Сагиттальный гистологический срез через сформированную церкарию, окрашивание кислыми гематоксилином Эрлиха-эозином. (Г, Д) Мукоидные структуры у формирующейся церкарии; тотальный препарат, окрашенный толуидиновым синим (Г), ДИК и гистологический срез, окрашенный азур II-эозином (Д). (Е) Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ), вид с вентральной стороны церкарии. (Ж–К) Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ), окрашивание антителами к ацетилированному альфа-тубулину, фосфотирозину и TRITC-фаллоидином. (Ж) Сформированная церкария, нервная система и циртоциты. (И, К) Формирующаяся церкария, протонефридиальная система (И) и фоторецепторы (К). Размерная шкала: 50 мкм. Сокращения: бп, брюшная присоска; внс, вентральный нервный ствол; гл, глотка; жп, железы проникновения; зв, задняя ветвь главного собирательного канала; кк, каудальный экскреторный канал; мп, мочевой пузырь; нф, непигментированный фоторецептор; пв, передняя ветвь главного собирательного канала; пг, пигментированный глаз; пж, протоки желез проникновения; рп, ротовая присоска; х, хвост; ц, циртоциты; цг, церебральный ганглий; чж, чехлообразующие железы.

*Особенности развития церкарий (Рисунок 12Г, Д)*

Развитие пигментированных глаз у церкарий начинается вскоре после формирования хвостовой почки. Личинки покидают редий на ранних этапах своего развития, их морфогенез завершается в тканях моллюска-хозяина. Мукоидные железы, описанные у Xiphidiata (в т.ч. Brachycladiidae, см. выше) и Oristorchiata отсутствуют. Метахроматически окрашенный толуидиновым синим секрет обнаружен только в чехлообразующих железах, расположенных в дорзальной части тела и в хвосте (Рисунок 12Г, Д). Закладка чехлообразующих желез происходит до того, как развивающиеся церкарии покинут зародышевую полость редий. Во время заключительных этапов морфогенеза секрет чехлообразующих желез транспортируется в наружную синцитиальную пластинку тегумента, которая из-за этого становится утолщённой (Рисунок 12А).

*Ремарки:* На ранних этапах заражения дочерние редии локализируются исключительно в гонаде моллюска, тогда как в более продвинутых случаях они начинают заселять и гепатопанкреас хозяина. Большое количество сформированных церкарий мы наблюдали только в двух зараженных особях *B. undatum*, собранных в апреле 2018 г. Во всех прочих зараженных букцинумах и *N. despecta*, пойманных в летние и осенние месяцы, были обнаружены преимущественно недоразвитые личинки и единичные сформированные церкарии.

**Таблица 6.** Размерные характеристики и таксономические признаки беломорских метацеркарий и мариит видов рода *Neophasis*. Все размеры приведены в микрометрах. В скобках после среднего указан разброс минимальных и максимальных значений. Список сокращений: БП-Яичник – расстояние от заднего края брюшной присоски до переднего края яичника; ДПС – длина тела после семенников; Ж-БП – расстояние от переднего края расположения полей желточных фолликулов до переднего края брюшной присоски; К-ЗТ – расстояние от заднего конца ветвей кишечника до заднего конца тела; РК-БП – расстояние от места разветвления кишечника до переднего края брюшной присоски.

	<i>Neophasis oculata</i> (мариты)	<i>Neophasis oculata</i> (метацеркарии, n = 10)	<i>Neophasis anarrhichae</i> (мариты)
Длина тела	922 (795-1135) (n = 11)	728 (631-828)	558 (431-653) (n = 16)
Ширина тела	272 (233-326) (n = 11)	204 (175-232)	188 (153-216) (n = 16)
Длина передней части тела	373 (283-444) (n = 11)	284 (218-332)	201 (149-257) (n = 16)
Соотношение длины передней части тела к длине тела, %	41 (26-45) (n = 11)	39 (32-44)	36 (32-39) (n = 16)
Ротовая присоска	91 × 91 (83-99 × 85-97) (n = 11)	66 × 73 (57-77 × 62-84)	83 × 89 (75-94 × 80-103) (n = 16)
Брюшная присоска	98 × 97 (87-110 × 83- 113) (n = 11)	75 × 69 (63-88 × 55-82)	83 × 94 (73-93 × 73-106) (n = 16)

Продолжение Таблицы 6

Отношение ротовой и брюшной присосок	1,09 (1:1,0-1,24) (n = 11)	1,15 (1:1,09-1,24)	0,99 (1:0,87-1,10) (n = 16)
Префаринкс	125 (61-207) (n = 10)	108 (59-146)	43 (33-60) (n = 10)
Глотка	78 x 70 (61-87 x 56-79) (n = 10)	51 x 62 (46-59 x 52-73)	67 x 60 (64-72 x 51-65) (n = 10)
Пищевод	56 (44-82) (n = 10)	49 (37-56)	26 (15-33) (n = 10)
РК-БП	37 (19-64) (n = 10)	25 (15-39)	10 (0-24) (n = 10)
Ж-БП	85 (56-118) (n = 10)	-	49 (18-82) (n = 10)
БП-Яичник	50 (0-86) (n = 10)	41 (21-70)	42 (22-70) (n = 10)
Яичник	74 x 66 (62-86 x 48-77) (n = 10)	41 x 38 (34-54 x 30-48)	66 x 55 (59-74 x 47-62) (n = 10)
Передний семенник	128 x 107 (102-150 x 59-147) (n = 11)	84 x 77 (66-107 x 48-96)	85 x 68 (69-104 x 55-84) (n = 14)
Задний семенник	136 x 117 (103-158 x 63-142) (n = 11)	98 x 85 (69-130 x 53-106)	96 x 65 (80-123 x 50-82) (n = 14)
Перекрытие семенников, %	53 (25-97) (n = 11)	43 (11-79)	52 (0-94) (n = 16)
Латеральное перекрытие семенников, %	26 (0-65) (n = 11)	4 (0-18)	22 (0-37) (n = 16)
ДПС	143 (111-174) (n = 11)	137 (113-163)	76 (58-93) (n = 16)
Отношение ДПС к длине тела, %	16 (13-18) (n = 11)	19 (17-22)	14 (10-18) (n = 16)
К-ЗТ	40 (25-50) (n = 10)	37 (20-49)	49 (30-77) (n = 10)
Число яиц	3 (1-5) (n=10)	-	4 (2-6) (n=10)
Размер яиц	96 x 43 (76-117 x 36-56) (n = 27)	-	91 x 43 (64-109 x 32-59) (n = 27)

*Метацеркарии Neophasis oculata (Рисунок 13, 14)*

*Место обнаружения:* Белое море; Керетский архипелаг, пролив Великая Салма (Кандалакшский залив); остров Большой Соловецкий (Онежский залив).

*Хозяин:* Европейский керчак *Myoxocephalus scorpius*.

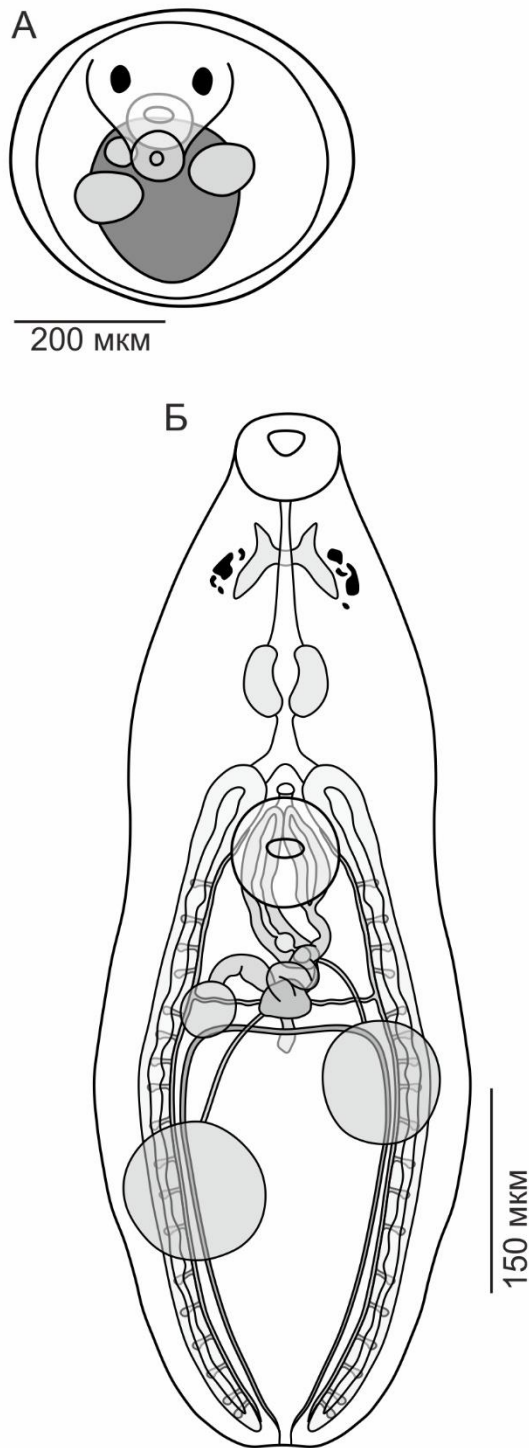
*Другие известные хозяева:* 11 видов рыб (см. обзор в Bray, Gibson, 1991; Таблица 2).

*Локализация:* Плавники, мускулатура.

*Ваучерный материал:* Парагенофоры, соответствующие изолятам 386.51s и 542.51s, депонированы в коллекции Кафедры зоологии беспозвоночных Санкт-Петербургского государственного университета под номерами NO004 и NO005.

*Описание:* Размерные характеристики приведены в Таблице 6.

Метацеркарии заключены в округлую или овальную цисту, 431 (362–511) × 368 (316–412) (измерения сняты с 10 зафиксированных спиртом особей). Снаружи от цисты присутствует рыхлая и непрозрачная оболочка, которая легко отделяется препаровальными иглами (Рисунок 14Б). Собственно циста прозрачная и эластичная (Рисунок 14А, Б). Тело извлеченных из цист метацеркарий овальное, вытянутое, более широкое в задней части, зауженное на концах (Рисунок 13Б; 14А). Шипы в передней части тела уплощенные, с зазубренными краями, в задней части простые, игловидные (Рисунок 14Д, Е). Шипы более крупные и чаще расположены в передней части тела, и более мелкие и редко расположены в его задней части (Рисунок 14Г–Е). Ротовая присоска расположена субтерминально, округлая или овальная (Рисунок 13Б; 14А, Г). Брюшная присоска округлая, расположена примерно в середине тела, чуть сдвинута к его передней части (Рисунок 13Б; 14А, Г). Префаринкс длинный, глотка овальная, пищевод короткий (Рисунок 13Б; 14А). Ветви кишки широкие, тянутся до заднего конца тела, слепо заканчиваясь по бокам от мочевого пузыря (Рисунок 13Б; 14А). Просвет в ветвях кишечника сформирован (Рисунок 13Б). Уропрокт отсутствует. Церебральный ганглий залегает дорзальнее префаринкса (Рисунок 13Б). Пигментированные глаза разобраны, пигмент разбросан по паренхиме (Рисунок 13Б; 14А). Непигментированный фоторецептор отсутствует. Мочевой пузырь яйцевидной формы, очень объемный, тонкостенный, простирается до задней границы яичника и оотипа (Рисунок 13Б; 14А, В); его просвет у живой личинки заполнен непрозрачными округлыми гранулами. Вторичная экскреторная пора расположена терминально на заднем конце тела (Рисунок 13Б). Протонефридиальная система мезостомного типа, экскреторная формула не установлена (Рисунок 14А). Половая система не до конца сформирована, однако зачатки всех составляющих ее органов четко различимы (Рисунок 13Б, 14А). Семенники крупные, округлые, залегают по диагонали в задней части тела (Рисунок 13Б, 14А). Задний семенник крупнее переднего. Семявыносящие каналцы присутствуют (Рисунок 13Б). Бурса цирруса длинная, С-образная, расположена справа, заходит в заднюю часть тела (Рисунок 13Б; 14В). Внутри бурсы четко различимы формирующиеся двухчастный семенной пузырек и семяизвергательный канал (Рисунок 13Б). В семенниках наблюдаются самые ранние этапы гаметогенеза. Половой атриум небольшой (Рисунок 13Б). Половое отверстие расположено медиально, перед брюшной



**Рисунок 13.** Метацеркария *Neophasis oculata*, личинка внутри цисты (А) и извлеченная из цисты (Б).

присоской (Рисунок 13Б). Яичник округлый, расположен справа, позади брюшной присоски, ближе к вентральной стороне тела (Рисунок 13Б; 14А). Яйцевод берет начало от дорзальной части яичника (Рисунок 13Б; 14А). Лауреров канал короткий, расположен медиально (Рисунок 13Б). Оотип хорошо заметный, расположен дорзо-медиально перед мочевым пузырем (Рисунок 13Б; 14А). Матка короткая, образует несколько изгибов, залегает вентральнее оотипа (Рисунок 13Б). Метратерм расположен с левой стороны тела, дорзальнее брюшной присоски (Рисунок 13Б). Зачаток желточника Н-образный (Рисунок 13Б). Его центральная часть залегает дорзальнее оотипа, а продольные стволы образуют короткие латеральные булавовидные выросты, представляющие собой формирующиеся желточные фолликулы (Рисунок 13Б; 14В). За исключением метратерма, просвет в протоках женской половой системы отсутствует (Рисунок 13Б; 14В). Гаметогенез в яичнике не начинается.

*Ремарки:* Метацеркарии *N. oculata* были отмечены у беломорских *M. scorpius* в течение всего периода наблюдений. Мы не приводим данные об экстенсивности и интенсивности инвазии керчаков метацеркариями, поскольку хозяева были обследованы только с целью получения материала для молекулярно-генетического и морфологического исследований.

*Мариты Neophasis oculata* (Рисунок 14Ж)

*Место обнаружения:* Белое море; Керетский архипелаг (Кандалакшский залив).

*Хозяин:* Европейский керчак *Myoxocephalus scorpius*.

*Другие известные хозяева:* 40 видов рыб (см. обзор в Bray, Gibson, 1991).

*Локализация:* Пилорические придатки, кишечник.

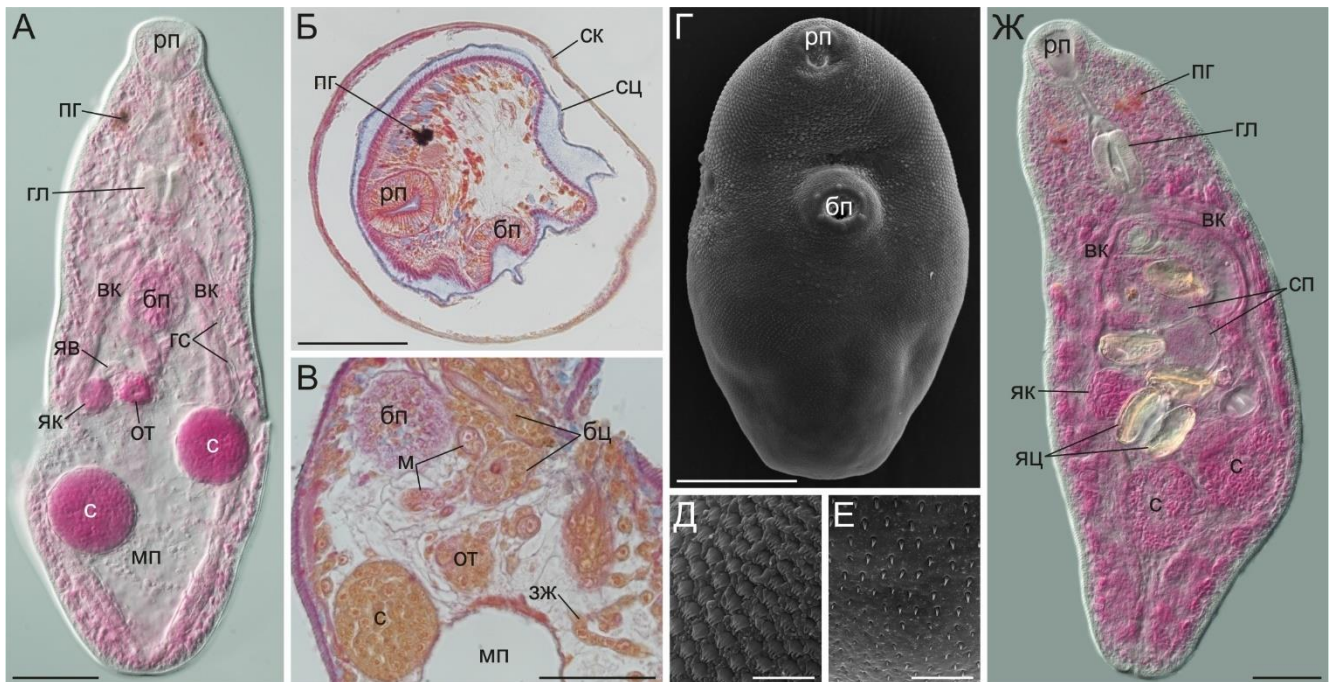
*Экстенсивность инвазии:* 41,3% (38 из 92).

*Интенсивность инвазии:* 1–183 ( $20,4 \pm 6,53$ )<sup>6</sup>

*Ваучерный материал:* Гологенофор VG5.2 (изолят 86.51s.1) и парагенефоры (NO002, NO003), соответствующие изолятам 86.51s.1 и 86.51s.2, депонированы в коллекции Кафедры зоологии беспозвоночных Санкт-Петербургского государственного университета.

*Описание:* Размерные характеристики приведены в Таблице 4.

*Ремарки:* Мариты *N. oculata* были отмечены у беломорских *M. scorpius* в течение всего периода наблюдений. Половозрелые особи попадались, преимущественно, в июле. Наиболее частая локализация в хозяине — пилорические придатки, хотя в сильно зараженных рыбах мариты могут быть обнаружены в других участках пищеварительного тракта: желудке, средней и задней кишке.



**Рисунок 14.** Метацеркарии (А–Е) и мариты (Ж) *Neophasis oculata*. Общий вид метацеркарии, окрашивание квасцовым кармином, дифференциально-интерференционный контраст (ДИК). (Б, В) Гистологические срезы, трехцветное окрашивание по Маллори; инцистированная метацеркария (Б) и детали ее внутреннего строения (В). (Г–Е) СЭМ, вид с вентральной стороны метацеркарии и шипы в передней (Д) и задней (Е) частях тела на большем увеличении. (Ж) Марита, окрашивание квасцовым кармином, ДИК. Размерная шкала: 100 мкм. Сокращения: бп, брюшная присоска; бц, бурса цирруса; вк, ветвь кишки; гл, глотка; гс, главный собирательный канал; зж, зачаток желточников; м, матка; мп, мочевого пузыря; от, оотип; пг, пигментированный глаз; рп, ротовая присоска; с, семенники; ск, стенка капсулы; сп, семенной пузырек; сц, стенка цисты; яв, яйцевод; як, яичник; яй, яйца.

<sup>6</sup> Указан разброс минимальных и максимальных значений, в скобках приведено среднее значение и стандартная ошибка.

*Партениты, церкарии и метацеркарии Neophasis anarrhichae* (Рисунок 15, 16)

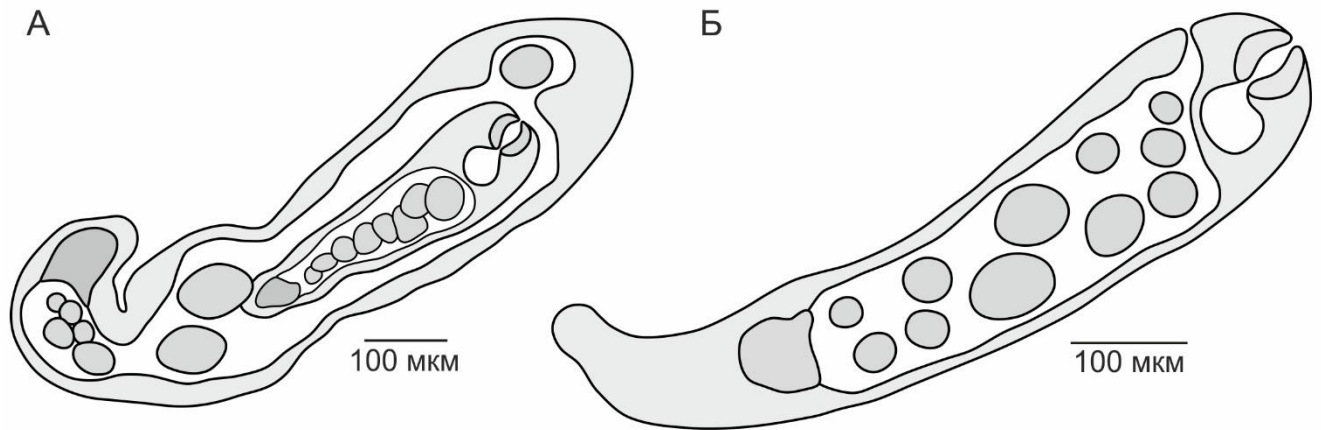
*Место обнаружения:* Белое море; Керетский архипелаг (Кандалакшский залив).

*Хозяин:* Обыкновенный букцидум *Vissium undatum*.

*Локализация:* Гепатопанкреас и гонада (материнские и дочерние редии); почка (материнские спороцисты и материнские редии). У сильно зараженных моллюсков дочерние редии могут также инфицировать почку, ктенидий, белковую железу и мантийную складку.

*Экстенсивность инвазии:* 5,5 % (110 из 1993).

*Ваучерный материал:* Гологенофор VG5.3 (материнская спороциста), а также изогенофоры (NA004-NA010), соответствующие изолятам 240.48s, 127.48s, 445.51s и 282.51s, депонированы в коллекции Кафедры зоологии беспозвоночных Санкт-Петербургского государственного университета.



**Рисунок 15.** Материнская спороциста (А) и материнская редия (Б) *Neophasis anarrhichae*.

*Описание:*

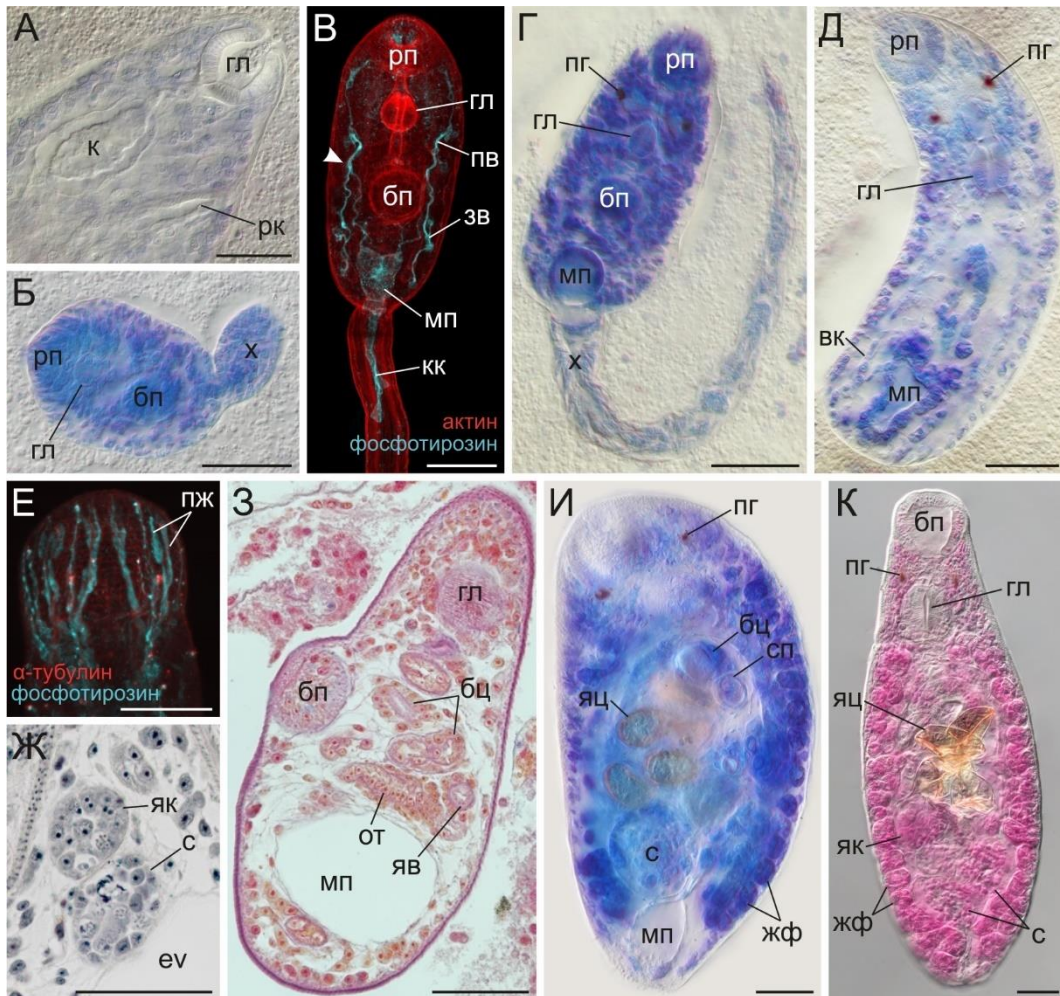
*Материнская спороциста* (Рисунок 15А)

В почке обыкновенного букцидума может одновременно находиться от одной до 10 материнских спороцист. У единственной измеренной особи тело вытянутое, его длина составляет 994, ширина — 211. Передний конец тела спороцисты расширен, а задний сужен. Зародышевая полость занимает практически все пространство в теле, содержит девять эмбрионов материнских редиий, один из которых значительно опережал в своем развитии остальные. Родильная пора не была выявлена. Герминальная масса находится в задней части тела, погружена в паренхиму.

*Материнские редии* (Рисунок 15Б)

[Измерения сняты с 10 зафиксированных спиртом особей из почки.] Тело вытянутое, 595 (272–836) × 104 (61–146), задний конец тела заострен. Редии подвижны. Ротовое отверстие расположено терминально, глотка небольшая, овальная, 48 (34–69) × 42 (25–56). Кишка овальная, 66 (27–92) × 41 (22–61). Зародышевая полость занимает практически все пространство внутри

тела, содержит эмбрионы редий на разных этапах развития. Родильная пора и хорошо выраженный родильный канал расположены позади глотки. Герминальная масса находится в задней части тела, погружена в паренхиму. У молодых редий кишка может занимать до трети длины тела; зародышевая полость у таких червей выражена слабо, а эмбрионы в ней отсутствуют.



**Рисунок 16.** Последовательные стадии жизненного цикла *Neophasis anarrhichae*. (А, Б) Тотальные препараты, окрашивание толуидиновым синим, дифференциально-интерференционный контраст (ДИК); передняя часть тела дочерней редии (А) и эмбриона церкарии (Б). (В) Поздний эмбрион церкарии, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ), окрашивание антителами к фосфотирозину и TRITC-фаллоидином. (Г, Д) Тотальные препараты, окрашивание толуидиновым синим, ДИК; церкария (Г) и метацеркария (Д). (Е) Протоки желез проникновения в передней части тела метацеркарии, КЛСМ, окрашивание антителами к ацетилированному альфа-тубулину и фосфотирозину. (Ж) Фрагмент сагиттального гистологического среза через метацеркарию, окрашивание железным гематоксилином Гейденгайна. (З) Сагиттальный срез через метацеркарию, трехцветное окрашивание по Маллори. (И) Прогенетическая метацеркария, тотальный препарат, окрашивание толуидиновым синим, ДИК. (К) Марита, окрашивание квасцовым кармином, ДИК. Размерная шкала: 50 мкм. Сокращения: бп, брюшная присоска; бц, бурса цирруса; гл, глотка; жф, желточные фолликулы; зв, задняя ветвь собирательного канала; к, кишка; кк, каудальный экскреторный канал; мп, мочевого пузыря; от, оотип; пв, передняя ветвь главного собирательного канала; пг, пигментированный глаз; пж, протоки желез проникновения; рк, родильный канал; рп, ротовая присоска; с, семенники; сп, семенной пузырек; х, хвост; яв, яйцевод; як, яичник; яц, яйца. Наконечник стрелки указывает на место разделения главного собирательного канала.



*Дочерние редии, церкарии и метацеркарии (Рисунок 16)*

Эти стадии жизненного цикла *Neophasis anarrichae* описаны в целом ряде других работ (Lebour, 1910; Чубрик, 1966; Kōie, 1969, 1971). Тем не менее, изученный нами материал позволяет уточнить некоторые особенности их строения.

Дочерние редии *N. anarrichae* снабжены родильным каналом и родильной порой, однако наиболее наиболее заметны они только у молодых особей (Рисунок 16А). Пигментированные глаза у церкарий закладываются сильно позже формирования хвостовой почки, и становятся отчетливо видны только к тому моменту, как длина развивающегося хвоста превысит длину тела эмбриона (Рисунок 16Б–Г). Кроме того, глаза церкарий *N. anarrichae* не такие крупные, как у церкарий *N. oculata* (сравни Рисунок 16Г и Рисунок 12А). Непигментированный фоторецептор закладывается как небольшая точка в передней части эмбриона, положительно окрашивающаяся только флуоресцентно меченным фаллоидином, но не фосфо-тирозином. Его дальнейшее развитие нами прослежено не было. Пищеварительная система включает префаринкс, глотку, зачаток пищевода и ветвей кишечника (Рисунок 16В, Г). Последние состоят из столбика клеток, которые не достигают самого заднего конца тела личинки. Церкарии обладают 13 железами проникновения и только 11 выявленными протоками, расположенными в теле так же, как и у *N. oculata*. Мочевой пузырь тонкостенный, обладает I-образной или яйцевидной формой (Рисунок 16В, Г). Протонефридиальная система мезостомного типа (Рисунок 16В). Главные собирательные каналы разделяются на переднюю и заднюю ветви около переднего края брюшной присоски (Рисунок 16В). В хвосте имеется каудальный экскреторный канал (Рисунок 16В). Чехлообразующие железы или мукоидные железы отсутствуют.

У метацеркарий *N. anarrichae* хорошо видны только девять протоков желез проникновения (Рисунок 16Е). Упомянутые М. Лебур железистые клетки, расположенные сразу позади ротовой присоски (Lebour, 1910), по-видимому, на самом деле представляют собой плотно упакованный пучок протоков. Эти протоки открываются на дне ротовой полости, а сами тела желез расположены сбоку от глотки. Ветви кишки никогда не достигают самого заднего конца тела (Рисунок 16Д). Мочевой пузырь обладает яйцевидной формой (Рисунок 16Д). Метацеркарии часто сохраняют короткий хвост, каудальный экскреторный канал в котором отсутствует. Все элементы половой системы четко различимы, а в яичнике и семенниках зачастую наблюдаются ранние этапы гаметогенеза (Рисунок 16Ж, З). Более того, в мужских гонадах могут присутствовать сформированные сперматозоиды. Метацеркарии могут приступать к яйцепродукции все еще находясь в зародышевой полости дочерних редий, что мы наблюдали у 21 зараженного хозяина в течение 2019–2021 гг. (Рисунок 16И; подробнее см. ниже).

*Ремарки:* В наших пробах несколько раз встречались моллюски, в почке которых наблюдались одна или несколько материнских спороцист и материнские редии, или же только материнские редии. Прочие органы таких букцинумов, в первую очередь гепатопанкреас и гонада, не были поражены партенитами трематод. По-видимому, изначально материнские редии населяют только почку хозяина, а впоследствии мигрируют в гепатопанкреас и гонаду, где могут быть обнаружены вместе с дочерними редиями. Ключевое различие между партенитами разных генераций — это содержимое зародышевой полости. Материнские редии продуцируют редий следующего поколения, тогда как в дочерних редиях формируются только эмбрионы церкарий<sup>7</sup>.

*Мариты* *Neophasis anarrhichae* (Рисунок 16К)

*Место обнаружения:* Белое море; Керетский архипелаг (Кандалакшский залив).

*Хозяин:* Полосатая зубатка *Anarrhichas lupus*.

*Другие известные хозяева:* *A. denticulatus*, *A. minor* (см. обзор в Bray, Gibson, 1991).

*Локализация:* Кишечник

*Экстенсивность инвазии:* 78,5 % (22 из 28).

*Ваучерный материал:* Парагенофоры (NA001-NA003), соответствующие изолятам 504.51s.1 и 504.51s.2, депонированы в коллекции Кафедры зоологии беспозвоночных Санкт-Петербургского государственного университета.

*Описание:* Размерные характеристики приведены в Таблице 6.

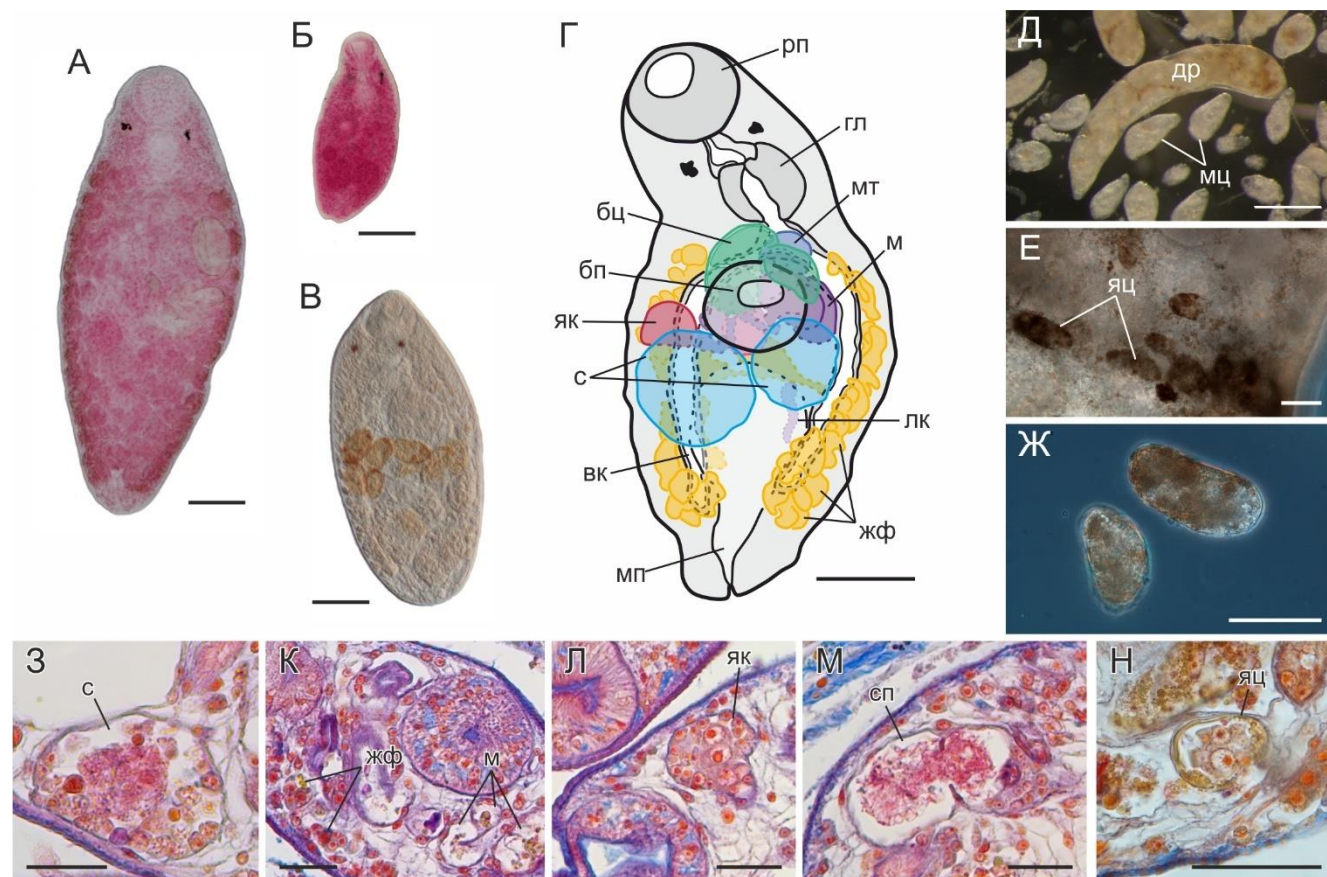
*Ремарки:* Количество паразитов в зараженной рыбе может варьировать от менее чем десяти до более чем 5000 особей. Половозрелые мариты *N. anarrhichae* были обнаружены в полосатой зубатке в течение всего периода наблюдений. Наиболее обычным местом поселения червей являются передние отделы средней кишки. Количество паразитов значительно уменьшается по мере продвижения по кишечнику. У сильно зараженных рыб мариты могут быть обнаружены и в задней кишке, однако в гораздо меньшем количестве, чем в средней. В желудке иногда попадаются неполовозрелые особи.

#### **4.4 Яйцепродукция метацеркарий *Neophasis anarrhichae* в первом промежуточном хозяине**

В 22 % (24 из 110) заражённых букцинумов мы наблюдали приступивших к яйцепродукции метацеркарий *N. anarrhichae*. Яйца были обнаружены как в матке таких прогенетических метацеркарий (до 8 штук), так и в зародышевой полости дочерних редий. Изучение гистологических срезов показало, что такие метацеркарии обладают полностью

<sup>7</sup> Лишь однажды в зародышевой полости дочерней редии, наряду с развивающимися церкариями, мы наблюдали одну формирующуюся редию.

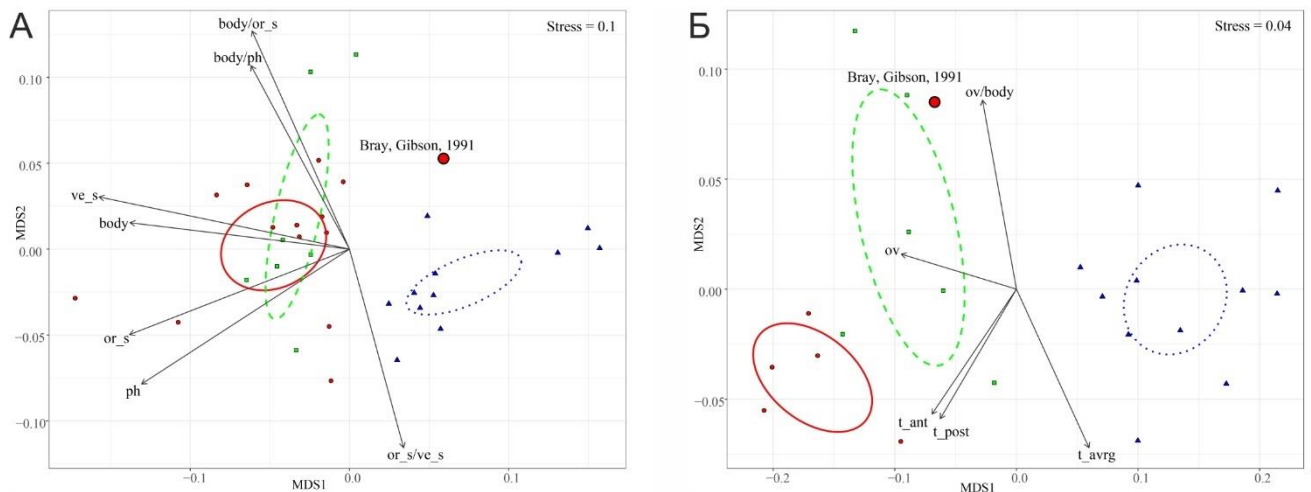
сформированной половой системой (Рисунок 17). Их семенной пузырек был заполнен спермиями, а в матке присутствовали яйца. Большинство яиц, которые мы наблюдали на гистологических срезах, были abortивными, но в некоторых из них наблюдались начальные этапы дробления яйцеклетки (Рисунок 17).



**Рисунок 17.** Последовательные стадии жизненного цикла *Neophasis anarrhichae*. (А) Марита, обычная (Б) и прогенетическая (В) метацеркарии; тотальный препарат, окрашивание квасцовым кармином (А, Б) и неокрашенная личинка (В). (Г) Схематическое изображение прогенетической метацеркарии. (Д) Дочерняя редия и прогенетические метацеркарии. (Е) Яйца в зародышевой полости дочерней редии, дифференциально-интерференционный контраст (ДИК). (Ж) Яйца прогенетической метацеркарии, ДИК. (З-Н) Гистологические срезы через прогенетических метацеркарий, трехцветное окрашивание по Маллори. Размерная шкала: 100 мкм (А–Г); 500 мкм (Д); 50 мкм (Е–Н). Сокращения: бп, брюшная присоска; бц, бурса цирруса; вк, ветвь кишки; гл, глотка; др, дочерняя редия; жф, желточные фолликулы; лк, Лауреров канал; м, матка; мт, метратерм; мп мочевого пузыря; мц, прогенетическая метацеркария; рп, ротовая присоска; с, семенники; сп, семенной пузырек; як, яичник; яй, яйца.

Нами была проведена морфометрия обычных и прогенетических метацеркарий, а также марит *N. anarrhichae*. Средние размеры обычных и прогенетических метацеркарий *N. anarrhichae* из гастроподы *B. undatum* и половозрелых марит из полосатой зубатки *A. lupus* приведены в Таблице 7, в которую мы дополнительно внесли размеры марит этого вида трематод, взятые из работы Р.А. Брэя и Д.А. Гибсона (Bray, Gibson, 1991), а также размеры марит и обычных метацеркарий *N. anarrhichae*, приведенные Г.К. Чубрик (1966). На полученном графике nMDS,

основанном на размерах соматических органов марит, 95%-е доверительные интервалы (ДИ) центроидов двух групп (марит и прогенетических метацеркарий) перекрываются друг с другом, в то время как ДИ третьего центроида (обычные метацеркарии) не пересекается с двумя предыдущими (Рисунок 18А). В эти различия вносят вклад размеры всех измеренных соматических органов (тела, ротовой и брюшной присосок, глотки). На графике pMDS, основанном на размерах репродуктивных органов, ДИ всех трех групп не пересекаются друг с другом: прогенетические метацеркарии расположены между маритами и обычными метацеркариями (Рисунок 18Б). Наибольший вклад в разделение этих групп внес размер яичника, в то время как разница в размере семенников оказалась менее значительной. Размер яиц в матке прогенетических метацеркарий достоверно меньше, чем в матке марит (t-критерий Стьюдента,  $p < 0,001$ ,  $n_1 = 30$ ,  $n_2 = 7$ ).



**Рисунок 18.** График pMDS, основанный на размерах соматических (А) и репродуктивных (Б) органов марит (круги и сплошная линия красного цвета); обычных метацеркарий (треугольники и точечная линия синего цвета); прогенетических метацеркарий (квадраты и пунктирная линия зеленого цвета). Эллипсы обозначают 95% доверительный интервал центроидов групп точек. Исходные переменные, достоверно скоррелированные с осями, представлены в виде стрелок для демонстрации их вклада в наблюдаемый паттерн. Крупные круги красного цвета представляют собой размерные данные марит (средние значения), взятые из работы Р.А. Брэя и Д.А. Гибсона (Bray, Gibson, 1991). Исходные переменные: body — площадь тела; ph — площадь глотки; ve\_s — площадь брюшной присоски; or\_s — площадь брюшной присоски; body/ph — отношение площади тела к площади глотки; body/or\_s — отношение площади тела к площади ротовой присоски; body/ve\_s — отношение площади тела к площади брюшной присоски; ov — площадь яичника; test\_a — площадь переднего семенника; test\_p — площадь заднего семенника; test/ov — отношение средней площади семенников к площади яичника; ov/body — отношение площади яичника к площади тела.

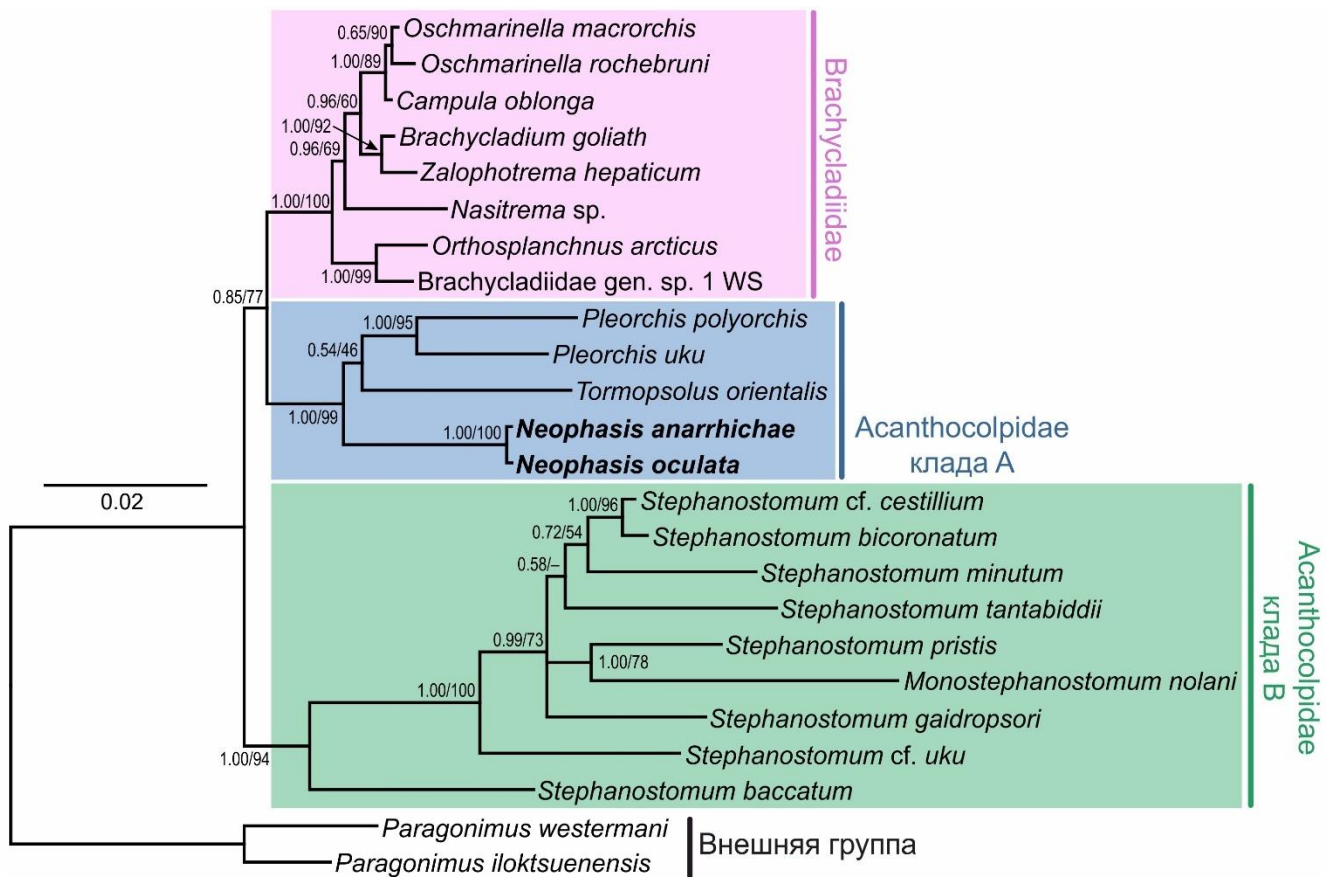
**Таблица 7.** Измерения марит, обычных и прогенетических метацеркарий *Neophasis anarrhichae*. Все размеры приведены в микрометрах. Для наших измерений после среднего значения указана ошибка среднего. В скобках дан разброс минимальных и максимальных значений.

	Наши данные			Bray, Gibson, 1991	Чубрик, 1966	
	мариты из <i>A. lupus</i>	метацеркарии из <i>B. undatum</i>	прогенетические метацеркарии из <i>B. undatum</i>	мариты из <i>A. lupus</i>	мариты из <i>A. lupus</i>	Метацеркарии из <i>B. undatum</i>
Длина тела	665,6±38,2 (504-735)	430,5±34,1 (337-528)	501,4±46,6 (432-571)	489 (383-615)	550-660	210-380
Ширина тела	341,9±25,8 (265-431)	180,6±12,6 (144-218)	301,4±34,8 (255-368)	220 (101-335)	190-260	90-170
Брюшная присоска, диаметр 1	89,6±6,7 (79-118)	69,1± 4,6 (56-78)	84,2±3,6 (77-90)	70 (51-105)	80-100	40-60
Брюшная присоска, диаметр 2	108,7 ±8,9 (85-146)	65,5± 5,4 (50-76)	100,6±8,3 (88-118)	76 (61-98)	-	-
Ротовая присоска, диаметр 1	98,5±6,1 (83-122)	67,9±4,7 (57- 81)	86,3±10,3 (68-101)	69 (48-94)	80-90	50-60
Ротовая присоска, диаметр 2	105,9±4,2 (97-121)	74,5±5,3 (59-85)	87,7±12,9 (62-109)	67 (47-95)	-	-
Глотка, диаметр 1	78,6 ±4,7 (66-96)	6,7 ±3,7 (51-68)	69±8,4 (53-85)	62 (47-80)	40-50	20-50
Глотка, диаметр 2	70,1 ±6,0 (55-95)	52,6 ±4,2 (40-61)	66,3± 6,1 (55-75)	55 (46-70)	-	-
Яичник, диаметр 1	78,0± 7,7 (68-90)	35,5±3,3 (29-44)	65,8±7,6 (57-81)	64 (45-88)	60-70	20-50
Яичник, диаметр 1	64,4±4,1 (58-68)	32,8±3,6 (24-42)	57,3±12,2 (46-84)	49 (38-68)	-	-
Передний семенник, диаметр 1	107±10,3 (107-139)	70,7±7,2 (50-88)	99±7,6 (82-110)	82 (48-139)	50-70*	20-30*
Передний семенник, диаметр 2	81±7,1 (69-91)	56,3±6,7 (40-74)	70,1±7,3 (53-77)	66 (37-80)		
Задний семенник, диаметр 1	119,7±16,2 (98-145)	67±6,1 (52-85)	95,5±8,4 (85-111)	69 (54-92)		
Задний семенник, диаметр 2	78,6±12,6 (66-98)	55,1±5,7 (42-67)	78,8±8,6 (61-85)	66 (35-85)		
Яйца, длина	103,4±30 (72-121)	-	72,9± 5,6 (67-85)	76-85	-	-
Яйца, количество	2,1±1,1 (0-8)	0	1,5±2 (0-8)	1-5	3-4	0

\* В работе приведены одинаковые размеры для обоих семенников

#### 4.5 Филогенетическое положение *Neophasis* spp.

В конкатенированный набор данных по 18S и 28S рДНК было включено 24 сиквенса, длина итогового выравнивания составила 2977 п.н. Последовательности *Paragonimus westermani* и *Paragonimus iloktsuenensis* были добавлены в качестве внешней группы (номера доступа и ссылки на статьи указаны в Приложении, Таблица 2). Филогенетические деревья, полученные с помощью Байесовского анализа и метода максимального правдоподобия (ML), обладали одинаковой топологией. Филогенетическое дерево, полученное с помощью Байесовского анализа, представлено на Рисунке 19, в его узлах указаны значения апостериорной вероятности. Кроме того, в узлах, поддержанных в анализе ML, указаны значения бутстреп-поддержки.



**Рисунок 19.** Филогенетическое положение *Neophasis anarrhichae* и *N. oculata*, основанное на конкатенированном наборе данных 18S и 28S рДНК. Молекулярно-филогенетическое дерево построено с помощью Байесовского анализа. Полученные нами последовательности выделены жирным шрифтом. Модель нуклеотидной замены: GTR+G+I. В узлах указаны значения апостериорной вероятности. В узлах, также поддержанных и в анализе максимального правдоподобия, указаны значения бутстрэпа. Размерная шкала отражает частоту замен. Номера доступа последовательностей из базы данных GenBank указаны в Приложении (Таблица 2).

На полученном филогенетическом дереве анализируемые трематоды разделились на три хорошо поддержанные монофилетические группы: Acanthocolpidae клады В, Acanthocolpidae клады А и Brachycladiidae. Последние две группы оказались сестринскими, но эта ветвь не обладает высокими значениями статистической поддержки. Такой характер ветвления внутри Brachycladioidea согласуется с результатами предыдущих филогенетических исследований (Bray et al., 2005; Curran, Pulis, 2014; Fraija-Fernández et al., 2015; Kremnev et al., 2020). Два вида рода *Neophasis* формируют хорошо поддержанную ветвь внутри Acanthocolpidae клады А. В состав клады А также входят *Tormopsolus orientalis* Yamaguti, 1934 и *Pleorchis* spp., однако порядок ветвления в пределах Acanthocolpidae клады А не был разрешен в нашем анализе.

#### 4.6 Обсуждение

В нашей работе мы переописали триксенный жизненный цикл *Neophasis oculata*, и впервые показали, что истинным первым промежуточным хозяином этого вида являются гастроподы из семейства Buccinidae, *Buccinum undatum* и *Neptunea despecta*. Кроме того, мы верифицировали вторично диксенный жизненный цикл *N. anarrhichae*. Генетические различия между двумя видами рода *Neophasis* были выявлены в фрагментах рибосомального оперона и митохондриального гена *cox1*. Мы привели первое детальное описание церкарий и метацеркарий *N. oculata*, материнских спороцист и материнских редий *N. anarrhichae*. Нами были дополнены имевшиеся в литературе описания строения дочерних редий, церкарий и метацеркарий *N. anarrhichae*. Мы показали, что ближайшим родственником *Neophasis* spp. являются представители Acanthocolpidae клады А, виды родов *Tormopsolus* и *Pleorchis*.

Род *Neophasis* включает в себя шесть видов, обитающих исключительно в умеренных и холодных морях северного полушария (WoRMS, 2021в). Из них только два вида, *N. oculata* и *N. anarrhichae*, были отмечены в водах северо-восточной Атлантики и прилегающих к ней морях Арктики (Bray, Gibson, 1991). По своей морфологии беломорские мариты *N. oculata* полностью соответствуют размерным характеристикам этого вида, приведенным в работе Р.А. Брэя и Д.И. Гибсона (Bray, Gibson, 1991). В то же время найденные нами мариты *N. anarrhichae* по ряду морфологических признаков (размеры ротовой и брюшной присосок, а также их соотношение; соотношение длины передней части тела к длине тела) напоминают представителей другого вида рода *Neophasis*, *N. pusilla* Stafford, 1904 (сравни Таблицу 6 и Bray, Gibson, 1991). Однако до настоящего времени вид *N. pusilla* был отмечен только в водах северо-западной Атлантики, а его мариты населяют не только кишечник, но также мочевой и желчный пузыри полосатой зубатки. На самом деле, виды *N. pusilla* и *N. anarrhichae* могут оказаться синонимичными, как

предполагают Р.А. Брэй и Д.И. Гибсон (Bray, Gibson, 1991), однако эта гипотеза нуждается в проверке с помощью молекулярно-генетических методов.

Мы показали наличие четких генетических различий между *N. oculata* и *N. anarrhichae* в рибосомальном опероне: были обнаружены две замены в фрагменте 18S рДНК, восемь замен в ITS1 и одна замена в регионе 5.8S+ITS2. Фрагмент 28S рДНК, содержащий домены D1–D3, не показал межвидовых различий между *N. anarrhichae* и *N. oculata*, что является практически беспрецедентной для трематод ситуацией. Аналогичный случай — отсутствие межвидовых отличий в фрагментах рибосомального оперона при различающейся морфологии личинок и марит, а также чёткому расхождению видов по митохондриальному гену — был ранее описан для двух представителей рода *Echinochasmus* Dietz, 1909 (Tatonova et al., 2020).

Наряду с нуклеотидными заменами, участок ITS1 у изученных нами видов имеет в своем составе неодинаковое количество повторов: семь у *N. anarrhichae* и девять у *N. oculata*. В результате, длина ПЦР фрагментов маркера ITS1 у этих видов различается примерно на 90 п.н., что может быть выявлено уже на геле после электрофореза. Резюмируя, генетические различия в фрагментах рибосомального оперона между *N. oculata* и *N. anarrhichae* невелики, однако они позволяют чётко разделить эти два вида.

Фрагменты *cox1* мтДНК показали степень вариабельности, вполне соответствующую таковой у прочих изученных в этом отношении трематод. Разница между значениями внутри- и межвидовой генетической изменчивости вполне отчетливая, что позволяет недвусмысленно провести границы между *N. oculata* и *N. anarrhichae*. Обнаружение необычной последовательности у *N. anarrhichae*, интерпретированной нами как “numt” (Blasco-Costa et al., 2016), подчеркивает, что исследователям необходимо с осторожностью анализировать получаемые последовательности митохондриальных генов. В отличие от настоящего гена *cox1*, “numt” последовательности у *N. anarrhichae* лишены внутривидовой изменчивости. Если бы мы не опознали эту последовательность как “numt” и не получили альтернативные сиквенсы, используя другую пару праймеров, мы могли бы принять её за настоящий ген *cox1*, что привело бы нас к ошибочным умозаключениям. Это подчеркивает важность оценки качества получаемых последовательностей мтДНК и, как минимум, необходимость проверки осмысленности транслированной нуклеотидной последовательности, а также отсутствия предсказанного функционального эффекта аминокислотных замен в белке.

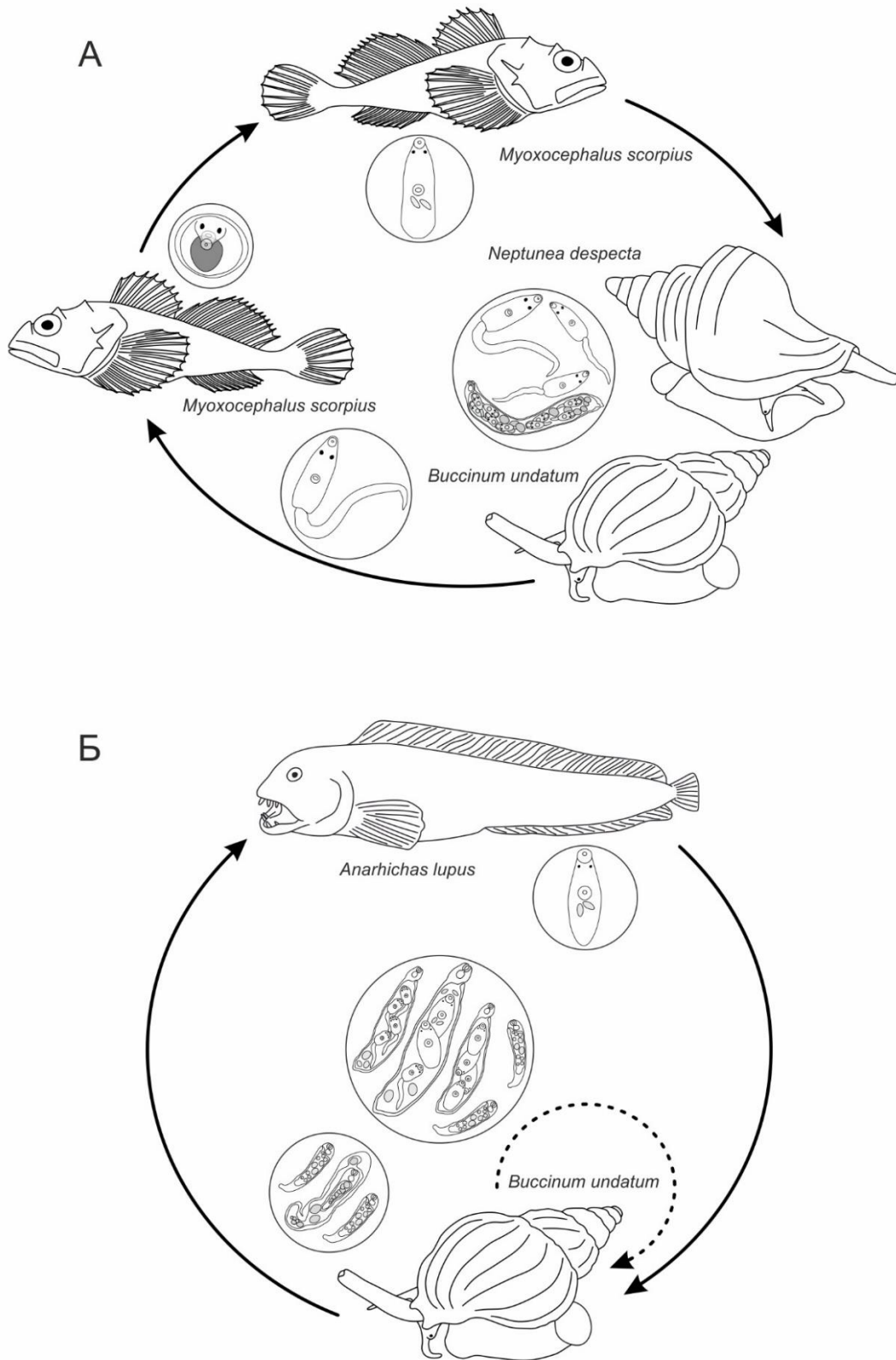
Принадлежность рода *Neophasis* акантокольпидам была предсказана на основании данных о морфологии и жизненных циклах этих трематод (Bray, Gibson, 1991). В нашей работе мы впервые установили филогенетическое положение этих трематод с помощью молекулярно-генетических методов и показали, что представители рода *Neophasis* формируют самостоятельную ветвь в пределах Acanthocolpidae клады А. Исходя из полученных нами и



прочими исследователями молекулярно-филогенетических деревьев, основанных на анализе фрагмента 28S рДНК, в эту кладу также входят виды родов *Tormopsolus* и *Pleorchis*, а, кроме того, несколько видов, известных только из первых промежуточных хозяев — *Cercaria capricornia* групп 1-3 (Рисунок 3, 19; Barnett, Miller, 2018; Kremnev et al., 2020). Последние не были включены в наш молекулярно-филогенетический анализ, поскольку для них в базе данных GenBank отсутствуют последовательности 18S рДНК.

Полученные нами молекулярно-генетические данные позволили верифицировать жизненный цикл *N. anarrhichae* и переписать жизненный цикл *N. oculata* (Рисунок 20). Впервые гипотеза о спектре промежуточных хозяев *N. oculata* была предложена Г.К. Чубрик (1966). Она обнаружила церкарий с парой пигментированных глаз в ценогастроподе *Cryptonatica affinis* из семейства Naticidae, а также метацеркарий с парой пигментированных глаз в двустворчатых моллюсках *Cerastoderma edule* и *Astarte crenata*. Исходя из поверхностного морфологического сходства между обнаруженными личинками и маритами *N. oculata* (также снабженных рудиментами пигментированных глаз), она посчитала, что триксенный жизненный цикл этого вида расшифрован. Однако мы показали, что партениты и личинки из *C. affinis* и двустворчатых моллюсков на самом деле относятся к семейству Brachycladiidae (см. выше; Kremnev et al., 2020). В данной работе мы продемонстрировали, что истинными первыми промежуточными хозяевами *N. oculata* являются гастроподы *B. undatum* и *N. despecta* (Neogastropoda: Buccinidae). Ранее в литературе были упомянуты редии и церкарии *Neophasis* sp. из *N. borealis* и *N. despecta* (Марасаев, 1984). Мы предполагаем, что они тоже относятся к виду *N. oculata*. Церкарии заражают второго промежуточного хозяина, в роли которого выступают различные бентосные рыбы (Таблица 2; Bray, Gibson, 1991). Инцистированные метацеркарии претерпевают дальнейшие морфогенетические преобразования и, в исключительных случаях, могут даже приступать к яйцепродукции (Догель, Розова, 1941), хотя чаще всего они не достигают половозрелости во втором промежуточном хозяине. Окончательные хозяева, рыбы (преимущественно представители семейства Cottidae, см. обзор Bray, Gibson, 1991), заражаются при поедании вторых промежуточных хозяев, инфицированных метацеркариями. В Белом море мы обнаружили марит *N. oculata* только в европейском керчаке, однако С.С. Шульман и Р.Е. Шульман-Альбова (1953) находили этого паразита в ледовитоморской рогатке *Myoxocephalus quadricornis* (Linnaeus, 1758). Наличие половозрелых марит в основном в июле, а полностью сформированных церкарий преимущественно в апреле указывает на возможную сезонную динамику в жизненном цикле *N. oculata* в Белом море. Кроме того, спектр вторых промежуточных хозяев этого вида в данной акватории не ограничен европейским керчаком. Метацеркарии *N. oculata* могут быть обнаружены в плавниках полосатой зубатки (наши

наблюдения), а также в инфраорбитальной полости глаза европейской лисички *Agonus cataphractus* (Linnaeus, 1758) (И. Дадыкин, личное сообщение).



**Рисунок 20.** Предлагаемая схема жизненного цикла *Neophasis oculata* (А) и *N. anarrhichae* (Б). По Kremnev et al., 2021, с изменениями.

Единственным промежуточным хозяином *N. anarrhichae* является обыкновенный букцидум *B. undatum*, в котором было задокументировано развитие материнских и дочерних партеногенетических поколений, а также церкарий и метацеркарий (Рисунок 20). Марианна Кюе (Køie, 1971) наблюдала материнскую спороцисту *N. anarrhichae* лишь однажды, на гистологических срезах *B. undatum*, зараженного дочерними редиями этого вида трематод. Она описала ее как небольшой округлый организм, заполненный примерно сотней развивающихся редий и расположенный под эпителием в основании сифона моллюска. Мы считаем, что эта материнская спороциста, вероятнее всего, принадлежит какому-то другому виду трематод. Согласно нашим наблюдениям, материнская спороциста *N. anarrhichae* (одна или несколько особей) паразитирует в почке букцидума, где отрождает материнских редий. Материнские редии поначалу накапливаются в почке, а затем мигрируют в гепатопанкреас и гонаду моллюска, где начинают продуцировать дочерних редий. С дальнейшим развитием инвазии, дочерние редии могут заселить и другие органы хозяина, включая белковую железу, ктений, мантийную складку и почку. В зародышевой полости дочерних редий формируются церкарии, которые без инцистирования развиваются в инвазионных для окончательного хозяина метацеркарий. Последние могут достигать половозрелости и приступать к яйцепродукции, все еще находясь внутри дочерних редий (Krupenko et al., 2019). Окончательные хозяева (в Белом море — только полосатая зубатка) заражаются при поедании букцидумов, содержащих метацеркарий (Рисунок 20).

Первое описание стадий развития *N. anarrhichae* из единственного промежуточного хозяина было приведено М. Лебур, в ее же работах можно обнаружить данные об экстенсивности инвазии этим паразитом брюхоногих моллюсков *B. undatum* на восточном побережье Великобритании (Lebour, 1910, 1911). Кроме того, достаточно интенсивно изучалась паразитофауна обыкновенного букцидума в датских водах Северного моря, а также в Баренцевом море (Чубрик, 1966; Кюе, 1969). Нами было вскрыто большее количество брюхоногих моллюсков *B. undatum*, чем в каждой из предыдущих работ по отдельности, что, вероятно, и объясняет, почему мы оказались первыми, кто описал прогенетических метацеркарий у *N. anarrhichae*.

Полученные нами данные свидетельствуют, что прогенетические метацеркарии этого вида по своим морфометрическим характеристикам практически идентичны маритам из полосатой зубатки. Из этого следует, что приступившие к яйцепродукции метацеркарии *N. anarrhichae*, строго говоря, не могут быть названы прогенетическими, если придерживаться формального определения такого биологического явления как прогенез<sup>8</sup>. С другой стороны, в

<sup>8</sup> Созревание половых клеток до достижения организмом взрослого состояния (Gould, 1977).

паразитологической литературе принято обозначать прогенетическими те стадии развития паразитов, у которых половые и соматические системы органов оказываются полностью сформированными до момента попадания в окончательного хозяина (Lefebvre, Poulin, 2005), что и характерно для приступивших к яйцепродукции метацеркарии *N. anarrhichae*.

Основные различия между прогенетическими метацеркариями и маридами *N. anarrhichae* сводятся к размеру яичника и яиц, а также к жизнеспособности формируемых яиц (последние в случае прогенетических метацеркарий являются преимущественно абортивными). Это может быть связано с характерной для гермафродитного поколения гетерохронией в развитии половой системы, поскольку у трематод, зачастую, органы женской половой системы начинают функционировать позже органов мужской половой системы. Подобное протерандрическое развитие ранее было описано, в частности, для некоторых представителей семейства Microphallidae (Галактионов, Добровольский, 1998).

Как мы уже отмечали, ни для одного из видов акантокольпид, включая представителей рода *Neophasis*, не описано развитие и строение мирацидиев, и нами тоже не было выполнено подобного исследования. Поэтому мы не можем заключить, способны ли яйца, продуцируемые метацеркариями *N. anarrhichae*, полноценно завершить свое развитие. Однако если в результате все же формируется инвазионная личинка, то в данном случае мы имеем дело с факультативно гомоксенным жизненным циклом, что является редкостью для трематод (Poulin, Cribb, 2002).

В литературе достаточно подробно обсуждались факторы, которые могут направлять эволюцию трематод в сторону прогенеза и возникновения сокращенных жизненных циклов (Poulin, Cribb, 2002; Lefebvre, Poulin, 2005). Из предлагаемых авторами причин, для рассматриваемого нами случая наиболее подходит «гипотеза времени развития», согласно которой возможность перехода к прогенезу определяется временем, проведенным паразитом внутри хозяина, безотносительно вероятности трансмиссии (Poulin, Cribb, 2002; Lagrue, Poulin, 2009). Более того, данное объяснение органично сочетается с особенностями онтогенеза гермафродитного поколения *N. anarrhichae*, которые мы подробно рассмотрим в следующем разделе. Прочие имеющиеся в литературе гипотезы навряд ли могут объяснить переход метацеркарий этого вида к прогенезу. Из всех них, «гипотеза нестабильности окружающей среды» может показаться привлекательной, учитывая изменчивый и разнообразный гидрологический режим Белого моря (Добровольский, Залогин, 1982). Однако условия обитания в сублиторальных сообществах, где и реализуется жизненный цикл *N. anarrhichae*, представляются все же более стабильными, чем в приливно-отливной зоне. Еще одно объяснение, «гипотеза редкого или отсутствующего хозяина», также не может быть принята, поскольку полосатая зубатка встречается в Белом море повсеместно (особенно в Кандалакшском заливе) и остается активной, по крайней мере, в течение всего гидрологического лета (Алтухов и

др., 1958; Ершов, 2010). В свою очередь, «гипотеза широтного градиента» не объясняет, почему в расположенном севернее Баренцевом море не были отмечены прогенетические метацеркарии *N. anarrhichae* (Чубрик, 1966). Наконец, «гипотеза каннибализма» может быть отвергнута, поскольку яйца у этого вида, как и, вероятно, у акантокольпид в целом, созревают во внешней среде, а не в матке марины (см. выше). Тем не менее, для окончательного вывода о влиянии того или иного фактора на конкретную паразито-хозяйинную систему необходимо проведение детальных экспериментальных исследований (Lagrue, Poulin, 2007, 2009; Herrmann, Poulin, 2009), что не входило в задачи нашей работы. Напоследок заметим, что отсутствие цисты на стадии метацеркарии обычно рассматривается в качестве фактора, способствующего прогенезу (Lefebvre, Poulin, 2005), что в полной мере характерно для вида *N. anarrhichae*.

Завершая раздел, стоит отметить, что в случае обнаружения ранних стадий заражения *N. anarrhichae* и *N. oculata* в их общем промежуточном хозяине, *B. undatum*, определение видовой принадлежности партенит и личинок может вызвать определенные затруднения. Для правильной идентификации исследователям следует обращать внимание, во-первых, на размер пигментированных глаз, которые у *N. oculata* не только крупнее, но и закладываются на более ранних этапах развития, а, во-вторых, на чехлообразующие железы, которые имеются у *N. oculata* и отсутствуют у *N. anarrhichae*. В частности, после просмотра тотальных препаратов Г.К. Чубрик, хранящихся в коллекции кафедры зоологии беспозвоночных СПбГУ, мы можем с уверенностью сказать, что описанные ею церкарии *N. anarrhichae* (Чубрик, 1966) на самом деле представляют собой не до конца сформированных личинок *N. oculata*, что очевидно исходя из размера пигментированных глаз этих личинок.

## Глава 5 Обсуждение. Морфология личинок, жизненные циклы и эволюция трематод из таксона *Brachycladioidea*

### 5.1 Эволюционные особенности строения личинок надсемейства *Brachycladioidea*

Опираясь на полученные нами данные, можно выделить ряд морфологических признаков, плезиоморфных для церкарий надсемейства *Brachycladioidea*. К ним будут относиться: (1) две присоски; (2) простой хвост; (3) вооруженный шипами тегумент; (4) три фоторецептора, два пигментированных и один непигментированный; (5) железы проникновения; (6) протонефридиальная система «мезостомного» типа, каудальный экскреторный канал в хвосте развивающихся личинок, шесть первичных групп циртоцитов; (7) секреторные гранулы в цитонах выстилки мочевого пузыря; (8) сложно устроенный зачаток половой системы. Зачаток пищеварительной системы изученных личинок устроен сходным образом, однако детали его организации незначительно варьируют. Например, церкарии *Brachycladiidae* могут обладать зачатками передних ветвей кишечника.

При этом некоторые особенности строения изученных нами церкарий существенно различаются. Так, церкарии *Brachycladiidae*, по сравнению с личинками *Neophasis oculata* (*Acanthocolpidae* клада А), обладают меньшими размерами тела, меньшим количеством циртоцитов, меньшим числом желез проникновения, собранными только в одну группу и менее дифференцированным зачатком половой системы (Рисунок 4, 11). Все это позволяет заключить, что основным направлением в эволюции строения церкарий *Brachycladiidae* могла быть миниатюризация и ювенилизация, тренд, достаточно широко распространенный среди церкарий трематод в целом (Гинецинская, 1968; Галактионов, Добровольский, 1998). Любопытно, что те же самые тенденции, вероятно, могут быть характерны и для метацеркарий брахикладиид. Личинки *Orthosplanchnus arcticus* обладают небольшими размерами, слабо дифференцированными зачатками пищеварительной и половой систем органов. В противовес метацеркариям этого вида, подавляющее большинство личинок акантокольпид обладают крупными размерами тела (Таблица 1), а для очень многих из них также характерно наличие хорошо развитой пищеварительной системы, со сформированным просветом в ветвях кишечника, и дифференцированной половой системы, в составе которой имеются зачатки всех желез и протоков (Рисунок 6, 13; Yamaguti, 1934, 1946; Wolfgang, 1955; Мамаев, Ошмарин, 1966; Overstreet, Hochsberg, 1975).

## 5.2 Жизненные циклы Brachycladioidea. Эволюционное становление трематод семейства Brachycladiidae

В этом разделе мы резюмируем все имеющиеся к настоящему моменту знания о жизненных циклах Brachycladioidea, чтобы продемонстрировать, что они принципиально различаются у представителей Brachycladiidae и Acanthocolpidae.

Практически все известные виды Brachycladiidae в качестве окончательных хозяев используют морских млекопитающих (Fraija-Fernández et al., 2016), однако промежуточные хозяева этих трематод до самого недавнего времени были неизвестны. Церкария с парой пигментированных глаз, предположительно относящаяся виду *Orthosplanchnus fraterculus* (Brachycladiidae), упоминалась Р.М. Кэйблом, однако в своей работе он не приводит какой-либо информации о таксономической принадлежности моллюска, в котором были обнаружены партениты и личинки (Cable, 1974). Кроме того, в литературе высказывались предположения, согласно которым морские костистые рыбы или головоногие моллюски могут выступать в качестве вторых промежуточных хозяев Brachycladiidae (Делямуре, 1955; Silveira et al., 2017; Andersen-Ranberg et al., 2018; Nakagun et al., 2018), однако немногочисленные попытки их подтверждения, к сожалению, не увенчались успехом (Dailey, 1969; Silveira et al., 2017).

Нам впервые удалось показать, что первыми промежуточными хозяевами двух видов брахикладиид, *Orthosplanchnus arcticus* и Brachycladiidae gen. sp. 1 WS, являются гастроподы из семейства Naticidae (Littorinimorpha), а в качестве второго промежуточного хозяина вид *O. arcticus* использует двустворчатых моллюсков. Представители семейства Naticidae обладают всесветным распространением и населяют самые разные биотопы: от литоральной зоны и до абиссали (Huelsken et al., 2008). Поэтому весьма вероятно, что натициды выступают в качестве первых промежуточных хозяев и у других видов брахикладиид. Это допущение вполне соответствует устоявшемуся представлению об узкой специфичности трематод по отношению к первому промежуточному хозяину (Гинецинская, 1968; Галактионов, Добровольский, 1998), которая нарушается в исключительно редких случаях (см. напр. Galaktionov et al., 2012). В то же время, мы сомневаемся, что спектр вторых промежуточных хозяев Brachycladiidae ограничен двустворчатыми моллюсками, поскольку многие китообразные (как зубатые, так и усатые киты) и ластоногие питаются скорее рыбой и головоногими моллюсками, а не бентосными бивальвиями (см. обзор Barros, Clarke, 2009). Таким образом, мы теперь точно знаем, что двустворчатые моллюски служат вторыми промежуточными хозяевами брахикладиид, а кроме того, не отказываемся от предположения, что в этой роли выступают также головоногие моллюски и рыбы.

Среди Acanthocolpidae кледы А, жизненные циклы были полностью расшифрованы только для двух видов рода *Neophasis*, *N. anarrhichae* и *N. oculata* (Lebour, 1910; Kremnev et al., 2021). Для прочих представителей этого таксона имеющаяся информация о жизненных циклах фрагментарна, однако позволяет составить непротиворечивое представление о спектре используемых промежуточных хозяев. Мариты *Neophasis* spp., *Pleorchis* spp. и *T. orientalis* паразитируют в морских костистых рыбах (Bray, 2005). Первыми промежуточными хозяевами у представителей Acanthocolpidae кледы А выступают брюхоногие моллюски из семейств Buccinidae, Nassariidae и Pisaniidae (Neogastropoda: Buccinoidea), что было убедительно показано для *Cercaria capricornia* групп 1–3, *N. anarrhichae*, *N. oculata* и *Tormopsolus* sp. (Lebour, 1910; Bartoli, Gibson, 1998; Barnett, Miller, 2018; Kremnev et al., 2021). Вторым промежуточным хозяином трематод Acanthocolpidae кледы А, в тех случаях, когда он имеется, выступают различные виды морских костистых рыб, что справедливо для *N. oculata* (Kremnev et al., 2021), *Pleorchis* sp. (Д.Ю. Крупенко, личное сообщение) и двух видов рода *Tormopsolus* (Таблица 1; Yamaguti, 1936; Bartoli, Gibson, 1998).

Все наши знания о жизненных циклах представителей Acanthocolpidae кледы В ограничены видами рода *Stephanostomum*. Их окончательными хозяевами являются морские костистые рыбы (Bray, 2005). Первыми промежуточными хозяевами в подавляющем большинстве случаев выступают гастроподы из таксона Buccinoidea, представители семейств Buccinidae и Nassariidae (Miller, Northup, 1926; Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Stunkard, 1961; Madhavi, Shameem, 1993; Barnett et al., 2010). Единственным исключением является вид *Stephanostomum caducum*, редии и церкарии которого развиваются в *Euspira nitida* (Donovan, 1804) (Littorinimorpha: Naticidae) согласно результатам, полученным М. Койе (Køie, 1978). Вторыми промежуточными хозяевами видов рода *Stephanostomum* выступают, преимущественно, морские костистые рыбы (Таблица 1; Stafford, 1904; Lühe, 1906; Синицин, 1911; Yamaguti, 1934, 1936; Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Stunkard, 1961; Køie, 1978; Pérez-del Olmo et al., 2007; Vidal-Martínez et al., 2012; Bennett et al., 2023; De Benedetto et al., 2023), однако метацеркарии *Stephanostomum* spp. были также зарегистрированы в качестве паразитов головоногих и двустворчатых моллюсков (Таблица 2; Overstreet, Hochberg, 1975; Madhavi, Shameem, 1993; Pérez-Urbiola, Martínez-Díaz, 2001).

Таким образом, мы видим, что характер жизненного цикла у представителей Acanthocolpidae кледы А и В, в целом, схожий, и может быть обобщен до схемы «гастропода из таксона Buccinoidea—рыба—рыба». Примечательно, что важная составляющая этой схемы воспроизводится и у всех оставшихся церкарий, традиционно относимых акантокольпидам, однако пока еще не вовлеченных в молекулярно-генетический анализ. Так, личинки *Cercaria caribbea* XXXIV, LXXII, LXXIII, *Cercaria portrosacculus*, *Cercaria itoi* и *Cercaria bengalensis* VII



развиваются в редиях, паразитирующих в неогастроподах из таксона *Buccinoidea*, видах семейств *Columbellidae*, *Fasciolaridae* и *Nassariidae* (Cable, 1956, 1963; Holliman, 1961; Shimura, 1984; Gnana Mani, 1994). *Stephanostomum caducum* представляет собой единственное исключение, и для этого случая мы можем предложить два объяснения. Либо акантокольпиды не ограничены представителями *Buccinoidea*, поскольку в пределах рода *Stephanostomum* произошла колонизация новой группы гастропод, первых промежуточных хозяев; либо же данные, полученные М. Койе в результате экспериментального заражения второго промежуточного и окончательного хозяев, являются некорректными (Køie, 1978). Окончательный вывод можно будет сделать только после переописания жизненного цикла *S. caducum* с использованием молекулярно-генетических методов.

Всё это позволяет нам пересмотреть имеющееся объяснение происхождения трематод из семейства *Brachycladiidae*. В литературе прочно укоренилось представление, что отделение брахикладиид от акантокольпид произошло в результате колонизации (“host-switch”) морских млекопитающих (Cable, 1974; Fernández et al., 1998b; Bray et al., 2005; Raga et al., 2009; Fraija-Fernández et al., 2015, 2016). Предполагалось, что единственное изменение, которое претерпел жизненный цикл предков *Brachycladiidae*, заключалось в переходе от исторического окончательного хозяина, рыбоядной рыбы, к морским млекопитающим, а спектр промежуточных хозяев остался тем же самым, что мы сегодня наблюдаем у акантокольпид. Однако теперь нам известно, что *Acanthocolpidae* и *Brachycladiidae* различаются не только использованием таких непохожих друг на друга окончательных хозяев, но и что в реализации их жизненных циклов принимают участие принципиально разные первые промежуточные хозяева. В случае акантокольпид это брюхоногие моллюски из таксона *Buccinoidea*, в то время как у брахикладиид их роль играют гастроподы из семейства *Naticidae*. Именно поэтому мы предполагаем, что эволюционное становление *Brachycladiidae* сопровождалось более серьезными перестройками. Во-первых, оно включало в себя полную реорганизацию жизненного цикла: освоение не только новых окончательных, но и промежуточных хозяев. Во-вторых, оно сопровождалось изменением онтогенеза гермафродитного поколения, проявившемся в миниатюризации и ювенилизации церкарий, а, также, вероятно, и метацеркарий.

Нам представляется, что именно перестройка жизненного цикла и позволила брахикладидам достичь эволюционного успеха, заключающегося в трех основных составляющих. Во-первых, это освоение в качестве окончательного хозяина практически всех ныне живущих морских млекопитающих (за исключением травоядных дюгоновых и сиреновых). Во-вторых, это всесветное распространение, от полюсов и до тропических морей. Наконец, это высокое видовое богатство, ведь по количеству видов брахикладииды превышают всех прочих трематод, мариты которых паразитируют в морских млекопитающих.

### 5.3 Эволюция жизненных циклов трематод из семейства Acanthocolpidae

В этом разделе мы хотим обратить внимание читателя на ряд различий в реализации жизненных циклов акантокольпид, что позволит нам наметить магистральное направление эволюции представителей Acanthocolpidae клады А. Для этого следует сопоставить данные о жизненных циклах с имеющимися молекулярно-филогенетическими реконструкциями.

На всех опубликованных молекулярно-филогенетических деревьях, базальное положение среди Acanthocolpidae клады В занимает *Stephanostomum dentatum* (Рисунок 3, 19; Bray et al., 2005; Barnett et al., 2010; Curran, Pulis, 2014; Fraija-Fernández et al., 2015; Barnett, Miller, 2018; Kremnev et al., 2020, 2021; Krupenko et al., 2023). В качестве второго промежуточного хозяина этот вид использует исключительно камбаловых рыб, типичных обитателей донных сообществ (Wolfgang, 1955; Ronald, 1960; Мамаев и др., 1963; Køie, 1983). Примечательно, что у подавляющего большинства видов рода *Stephanostomum* метацеркарии также были зарегистрированы в рыбах, ведущих придонный образ жизни (Таблица 1). Кроме того, именно представители *Stephanostomum* spp. освоили в качестве второго промежуточного хозяина бентосных беспозвоночных — головоногих и двустворчатых моллюсков (Таблица 1; Pérez-Urbiola, Martínez-Díaz, 2001). Гораздо реже метацеркарии видов рода *Stephanostomum* встречаются в рыбах, ведущих бентопелагический и пелагический образ жизни (Таблица 1). Наконец, практически все церкарии, принадлежность которых Acanthocolpidae кладе В считается доказанной на основании экспериментальных заражений или молекулярно-генетических данных, не обладают какими-либо уникальными морфологическими адаптациями (Martin, 1939; Wolfgang, 1955; Madhavi, Shameem, 1993; Barnett et al., 2010). Исключение составляют личинки *Stephanostomum dentatum*, хвост которых снабжен плавниковой мембраной, а также церкарии *S. caducum*, дистальная часть хвоста которых снабжена впячиванием, в которое открываются протоки железистых клеток (Miller, Northup, 1926; Stunkard, 1961; Køie, 1978).

Согласно имеющимся на текущий момент молекулярно-филогенетическим реконструкциям, внутри Acanthocolpidae клады А имеются две монофилетические группы, одна из которых представлена видами рода *Pleorchis*, а вторая — личинками *Cercaria capricornia* групп 1–3 и *Tormopsolus orientalis* (Рисунок 3; Kremnev et al., 2020; Krupenko et al., 2023). При этом положение рода *Neophasis* в пределах этой клады акантокольпид пока еще остается неразрешенным (Рисунок 19; Kremnev et al., 2021; Krupenko et al., 2023). Стоит напомнить, что церкарии рода *Tormopsolus* и личинки *Cercaria capricornia* групп 1–3 являются крупными организмами с расширенным постацетабулярным отделом тела, для них также характерно наличие пигментации (Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008; Barnett, Miller, 2018). Кроме того, церкарии *Cercaria capricornia* групп 1–3 дополнительно снабжены вентральным килем и

латеральными выростами (Barnett et al., 2008; Barnett, Miller, 2018). Для этих же личинок *Cercaria capricornia* групп 1–3 характерно дискретное движение и принятие особой позы во время фазы покоя (Barnett et al., 2008). Все эти морфологические и поведенческие адаптации служат, как считается, для привлечения внимания второго промежуточного хозяина (Bartoli, Gibson, 1998; Barnett et al., 2008; Barnett, Miller, 2018). Его роль играют бентосные и бентопелагические рыбы-микрофаги, что было показано для видов рода *Tormopsolus* (Таблица 2). Той же самой стратегии «подражания добычи» придерживаются и церкарии *Pleorchis* sp. Okw1, однако она реализуется за счет иных морфологических и поведенческих адаптаций. Напомним, что для этого вида характерно образование крупной агрегации из личинок, различающихся по своему строению (Krupenko et al., 2023).

В противовес всем этим сильно модифицированным личинкам, церкарии *Neophasis oculata* обладают гораздо более скромным, «неспециализированным» внешним видом: меньшими размерами, отсутствием расширенного постацетабулярного отдела тела, пигментации, кия или латеральных выростов, плавниковой мембраны. Примечательно также, что метацеркарии *N. oculata* были зарегистрированы исключительно в рыбах, ведущих придонный образ жизни (см. выше; Таблица 2). Эти особенности реализации жизненного цикла и морфологии церкарии сближают *N. oculata* с некоторыми представителями Acanthocolpidae клады В.

Собрав эти факты воедино, мы можем предположить, что плезиоморфным состоянием для акантокольпид будет реализация жизненного цикла с участием бентосного второго промежуточного хозяина, рыбы, которую заражают церкарии, не обладающие какими-либо уникальными морфологическими адаптациями. Пример такого жизненного цикла в пределах Acanthocolpidae клады А мы наблюдаем у *N. oculata*. Дальнейшая эволюция внутри этого таксона трематод, по-видимому, была направлена в сторону освоения рыб-микрофагов — вторых промежуточных хозяев, а также, вероятно, сопровождалась постепенным переходом от заражения бентосных рыб к инфицированию обитателей бентопелагиали и пелагиали. Судя по всему, эти процессы происходили в пределах двух групп внутри Acanthocolpidae клады А (*Pleorchis* spp. и *Cercaria capricornia* групп 1–3+*Tormopsolus orientalis*) независимо и на базе разных морфологических и поведенческих адаптаций церкарий.

#### 5.4 Возникновение вторично диксенного жизненного цикла *Neophasis anarrhichae*

Церкарии *Neophasis anarrhichae*, хотя никогда и не покидают моллюска-хозяина, все же сохранили большую часть провизорных органов, имеющих у родственного вида *N. oculata*, обладающего обычным триксенным жизненным циклом. К этим ценогенезам относятся: железы

проникновения; пигментированные и непигментированный фоторецепторы; хвост. Наличие такого набора провизорных органов свидетельствует в пользу предположения, согласно которому *N. anarrhichae* берет свое происхождение от вида, обладавшего свободноплавающей личинкой, и что выпадение второго промежуточного хозяина из его путей циркуляции произошло вторично и относительно недавно (Køie, 1973; Bray, Gibson, 1991). При этом отсутствие у церкарий *N. anarrhichae* чехлообразующих желез, а также меньший размер пигментированных глаз (по сравнению с церкариями *N. oculata*) однозначно свидетельствуют о потере морфологических адаптаций для осуществления трансмиссии и заражения второго промежуточного хозяина. Кроме того, в отличие от *N. oculata*, развитие особей гермафродитного поколения *N. anarrhichae* в промежуточном хозяине продолжается до тех пор, пока церкарии этого вида не превратятся в метацеркарий, инвазионных для окончательного хозяина. Примечательно, при этом, что развитие половой системы у метацеркарий *N. anarrhichae* не останавливается на том же этапе, что у личинок *N. oculata*; в протоках половой системы формируется просвет, в гонадах начинается гаметогенез, а в семенниках могут даже встречаться сформированные спермии. Как итог, в некоторых случаях морфогенез *N. anarrhichae* заходит еще дальше, в результате чего метацеркарии могут стать половозрелыми и приступить к яйцепродукции все еще находясь в первом промежуточном хозяине. Таким образом, жизненный цикл этого вида потенциально способен реализовываться с участием только одного хозяина, моллюска (Krupenko et al., 2019).

Мы считаем, что ключевую роль в сокращении путей циркуляции и появлении вторично диксенного жизненного цикла в пределах рода *Neophasis* сыграл переход от дискретного морфогенеза гермафродитного поколения к непрерывному. Аналогичные изменения сопровождали становление вторично диксенных жизненных циклов у представителей семейства Microphallidae, одних из наиболее всесторонне изученных трематод в аспекте сокращения путей циркуляции (Галактионов, 1933). В типичном триксенном жизненном цикле церкарии не способны напрямую заразить окончательного хозяина, а наличие второго промежуточного хозяина необходимо для прохождения целого ряда морфогенетических преобразований, в результате которых личинка и становится инвазионной. Однако как только церкария приобретает способность продолжать свое развитие и превращаться в метацеркарию, все еще находясь внутри моллюска, потребность во втором промежуточном хозяине постепенно отпадает, а его функциональную роль берет на себя первый промежуточный хозяин. Здесь будет уместным напомнить, что среди других видов Brachycladioidea имеются предпосылки к возникновению жизненных циклов подобного типа. Способность церкарий, вероятно, относящихся виду *N. oculata* инцистироваться в тканях первого промежуточного хозяина, гастропод *Neptunea* spp.,

была отмечена С.Ф. Марасаевым (1984), а мы описали аналогичный феномен для *O. arcticus* из семейства Brachycladiidae (см. выше; Kremnev, 2020).

Важным следствием перехода к непрерывному онтогенезу у *N. anarrhichae* стала потеря фаз морфогенетического покоя, соответствующих стадиям сформированных церкарий и метацеркарий видов с триксенным жизненным циклом. Это обстоятельство и объясняет, на наш взгляд, то бросающееся в глаза несоответствие в описаниях “церкарий” *N. anarrhichae*, имеющих в литературе (Lebour, 1910, 1911; Чубрик, 1966; Кюйе, 1973). Более того, наличие, казалось бы, такого явно специфичного для стадии церкарии морфологического признака — хвоста — в случае *N. anarrhichae* не может использоваться в качестве диагностического критерия, поскольку он зачастую сохраняется у личинок, явно находящихся на более поздних этапах онтогенеза. Так, описанные М. Лебур хвостатые “церкарии” *N. anarrhichae* по степени развития пищеварительной и половой систем органов скорее соответствуют метацеркариям *N. oculata* (Lebour, 1910, 1911). Аналогичным образом, тегумент снабженных хвостом “церкарий” *N. anarrhichae*, описанных М. Кюйе, вооружен уплощенными шипами с зазубренными концами (Кюйе, 1973). При этом у церкарий *N. oculata* шипы тегумента обладают конической формой, а их уплощение и расщепление дистальной части приурочено к метацеркариогенезу, а завершается, судя по всему, уже во время маритогонии (см. выше; Рисунок 12, 14). Самым очевидным маркером стадии метацеркарии, в свою очередь, является наличие цисты, внутри которой размещается личинка. Отсутствие же инцистирования не позволяет однозначно выделять соответствующую стадию в онтогенезе гермафродитного поколения *N. anarrhichae*. Более того, поскольку у этого вида развитие в единственном промежуточном хозяине не останавливается на каком-то определенном этапе, а может продолжаться вплоть до начала яйцепродукции, то и граница между стадиями метацеркарии и мариты у *N. anarrhichae* также оказывается достаточно прозрачной. Подводя итог, мы считаем, что в непрерывном онтогенезе *N. anarrhichae* любые границы, которые бы соответствовали стадиям церкарии, метацеркарии или мариты у видов с триксенными жизненными циклами, можно выделять очень условно, и только ориентируясь на совокупность признаков.

Примечательно также, что в развитии гермафродитного поколения *N. anarrhichae* явно проявляются элементы гетерохронии, то есть происходит замедление скорости развития соматических систем органов, сопровождающееся ускорением развития половой системы (Гинецинская, 1968; Галактионов, Добровольский, 1998). Это проявляется, в первую очередь, в небольших размерах личинок и взрослых червей этого вида. Как мы уже упоминали, метацеркарии и мариты *N. anarrhichae* являются одними из самых маленьких среди всех акантокольпид. Замедление скорости развития соматических систем органов также наблюдается

и в строении пищеварительной системы *N. anarrhichae*, поскольку ветви кишечника у этого вида никогда не достигают самого заднего конца тела.

Вернемся к эволюционным предпосылкам возникновения вторично диксенного жизненного цикла у *N. anarrhichae*. Переключение этим видом на новых окончательных хозяев — зубаток рода *Anarrhichas* — вероятно связано с особенностями питания этих рыб, которые активно потребляют беспозвоночных с твердым скелетом, таких как моллюски, иглокожие и ракообразные (Bray, 1987; Falk-Petersen et al., 2010; Ершов, 2010). Примечательно, при этом, что первым промежуточным хозяином *N. anarrhichae* является только обыкновенный букцидум, в то время как близкородственные гастроподы рода *Neptunea* — нет. Такую строгую специфичность к первому промежуточному хозяину также можно объяснить через особенности питания окончательного хозяина. Так, в пищевом комке полосатой зубатки частота встречаемости останков гастропод *Vuccinum undatum* во много раз превышает встречаемость останков брюхоногих моллюсков рода *Neptunea* (Falk-Petersen et al., 2010). Это, в свою очередь, может быть обусловлено большей доступностью обыкновенного букцидума в качестве пищевого объекта, ввиду его меньших размеров и более хрупкой раковины, а также, вероятно, за счет его большего изобилия в бентосных морских сообществах.

Вторично диксенные жизненные циклы, возникшие в результате сокращения путей циркуляции, и в которых моллюск выполняет одновременно роль и первого, и второго промежуточных хозяев, известны в 11-ти семействах трематод: у отдельных видов *Fellodistomidae*, *Gorgoderidae*, *Gymnophallidae*, *Lissorhiidae*, *Microphallidae*, *Monorchiiidae*, *Zoogonidae*, а также всех изученных в этом отношении *Cyclocoelidae*, *Eucotylidae*, *Hasstilesiidae* и *Leucochloridiidae* (Bartoli et al., 2000; Poulin, Cribb, 2002; Pina et al., 2009; Kremnev et al., 2023; Assis, Pinto, 2023). Существует устоявшееся предположение, что возникновение вторично диксенных жизненных циклов такого типа чаще всего связано с адаптацией к неблагоприятным абиотическим факторам (Галактионов, 2016). Действительно, наиболее уязвимыми этапами жизненного цикла трематод как раз и являются две фазы дисперсии во внешней среде, в базовом варианте осуществляемые свободноплавающими личинками — церкариями и мирацидиями.

Поэтому неудивительно, что сокращение путей циркуляции в случае представителей семейств *Cyclocoelidae*, *Eucotylidae*, *Hasstilesiidae* и *Leucochloridiidae* объясняют освоением наземно-воздушной среды обитания (Галактионов, 2016). Эволюционное распространение вторично диксенных жизненных циклов среди трематод из семейства *Microphallidae* связывают с обитанием в высокоширотных литоральных сообществах (Galaktionov et al., 2012; Galaktionov, 2017; Galaktionov, Blasco-Costa, 2018). *Gymnophallus choledochus* Odhner, 1900, представитель семейства *Gymnophallidae*, переключается с триксенного жизненного цикла на диксенный в зимнее время года (Loos-Frank, 1969). Предполагается, что аналогичным образом поступают

некоторые виды семейства *Zoogonidae* (Pina et al., 2009). В отличие от всех перечисленных примеров, сокращение путей циркуляции в случае *N. anarrhichae* вряд ли можно трактовать как адаптацию, возникшую в ответ на постоянное воздействие неблагоприятных факторов внешней среды. Единственный промежуточный хозяин этого вида, брюхоногий моллюск *B. undatum*, обитает на достаточно широком диапазоне глубин, от нижней границы литорали и до 200 м и более (Golikov, 1968; Nielsen, 1974). Однако наиболее предпочтительной глубиной для этой гастроподы, по-видимому, является 20–30 м (Valentinsson et al., 1999; Ellis et al., 2000) или даже 50–60 м (Borsetti et al., 2018). Условия обитания в этой части сублиторальной зоны, в целом, достаточно постоянны, что исключает участие абиотических факторов в качестве стимула, приведшего к сокращению путей циркуляции в жизненном цикле *N. anarrhichae*.

Таким образом, мы предполагаем, что становление вторично диксенного жизненного цикла *N. anarrhichae* было обусловлено приобретением непрерывного онтогенеза у гермафродитного поколения. При этом интенсивные взаимоотношения «хищник-жертва» между зубатками и обыкновенным букцинумом способствовали закреплению двуххозяинного цикла. Иными словами, сокращение путей циркуляции у *N. anarrhichae*, в отличие от всех прочих трематод с жизненными циклами подобного типа, было обусловлено воздействием скорее биотического, а не абиотического фактора.

## Заключение

Особенности биологии трематод неизбежно приводят исследователей к необходимости изучения жизненных циклов этих паразитов. Получение таких данных становится тем более актуально, если мы пытаемся выявлять эволюционные закономерности как для отдельных таксонов трематод, так и для всей группы в целом. Результаты нашей работы стали первым шагом на пути к пониманию эволюции трематод надсемейства *Brachycladioidea*. Так, впервые полученные данные о промежуточных хозяевах представителей семейства *Brachycladiidae* позволили нам выяснить, что эволюционное становление этих паразитов морских млекопитающих сопровождалось кардинальными перестройками жизненного цикла. В свою очередь, переописание и верификация жизненных циклов двух видов *Acanthocolpidae* клады А дали нам возможность наметить вероятное направление эволюции жизненных циклов, стратегий заражения и морфологии церкарий в пределах этой группы трематод. Кроме того, полученные результаты расширили наши представления о причинах возникновения вторично диксенных жизненных циклов трематод.

Дальнейшее развитие нашей работы можно вести как минимум по двум основным направлениям. Во-первых, остро необходимы более глубокие молекулярно-филогенетические исследования, выполненные, например, с привлечением данных по митохондриальным геномам. Это позволит не только точнее установить положение группы Brachycladioidea на филогенетическом дереве трематод, но и однозначно реконструировать взаимоотношения внутри этого таксона. Во-вторых, крайне важны работы по переописанию и расшифровке жизненных циклов, которые позволят получить новый фактический материал о спектрах промежуточных хозяев, морфологии и поведении личинок Brachycladioidea. В первую очередь, это необходимо сделать для представителей Acanthocolpidae клады В, однако не менее актуальным будет выполнение таких исследований и для видов Acanthocolpidae клады А, и для видов семейства Brachycladiidae. В совокупности все это позволит не только детальнее осветить эволюционную историю Brachycladioidea, но и выйти на более общие вопросы, связанные с колонизацией трематодами морских млекопитающих, а также освоением рыб в качестве второго промежуточного хозяина.

## Выводы

1. Подтверждена гипотеза о принадлежности к семейству Brachycladiidae партенит и личинок из натицидных гастропод и двустворчатых моллюсков, ранее описанных как *Neophasis* spp. Они являются стадиями развития вида *Orthosplanchnus arcticus*, паразита настоящих тюленей и моржа. Еще один близкий *O. arcticus* вид брахикладиид также использует в качестве первого промежуточного хозяина гастроподу *Cryptonatica affinis*.

2. Жизненный цикл *Neophasis oculata* полностью соответствует схеме, характерной для Acanthocolpidae. Его первым промежуточным хозяином являются брюхоногие моллюски из семейства Buccinidae, вторым промежуточным и окончательным — морские рыбы. У вида *N. anarrhichae* единственным промежуточным хозяином выступает гастропода *Buccinum undatum*, а окончательным — зубатки рода *Anarrhichas*.

3. Acanthocolpidae и Brachycladiidae обладают принципиально разным набором хозяев в жизненном цикле: это гастроподы надсемейства Buccinoidea (Neogastropoda)—рыбы—рыбы у акантокольпид, и гастроподы семейства Naticidae (Littorinimorpha)—двустворчатые моллюски—морские млекопитающие у брахикладиид. Из этого следует, что эволюционное становление Brachycladiidae сопровождалось полной перестройкой жизненного цикла: включением не только новых окончательных, но и промежуточных хозяев.



4. Род *Neophasis* принадлежит Acanthocolpidae кладе А и, по-видимому, сохраняет плезиоморфные признаки данного таксона. На это указывают особенности жизненного цикла и морфологии церкарии *N. oculata*.

5. Основным направлением в эволюции строения церкарий Brachycladiidae была миниатюризация и ювенилизация. По сравнению с личинками Acanthocolpidae клады А, они обладают меньшими размерами тела, меньшим количеством циртоцитов, меньшим числом желез проникновения, собранными только в одну группу, и менее дифференцированным зачатком половой системы. Те же эволюционные тенденции, вероятно, могут быть характерны и для метацеркарий брахикладиид, также обладающих небольшими размерами тела и менее дифференцированными зачатками пищеварительной и половой систем органов, по сравнению с метацеркариями акантокольпид.

6. Магистральным направлением эволюции жизненных циклов Acanthocolpidae клады А был переход от бентосных рыб, вторых промежуточных хозяев, к бентопелагическим и пелагическим рыбам-микрофагам. Это сопровождалось изменением в морфологии и поведении церкарий, а также сменой стратегии заражения. Судя по всему, переход к стратегии «подражания добычи» произошел в эволюции Acanthocolpidae клады А как минимум дважды, независимо и на базе разных морфологических и поведенческих адаптаций личинок.

7. В развитии гермафродитного поколения *N. anarrichae* со вторично диксенным жизненным циклом сохраняются практически все ценогенезы, характерные для вида *N. oculata*, обладающего триксенным жизненным циклом, что указывает на относительно недавнюю дивергенцию этих видов. При этом церкарии *N. anarrichae* не способны покидать промежуточного хозяина и осуществлять трансмиссию, поскольку у них отсутствуют чехлообразующие железы и слабо развиты фоторецепторы.

8. Развитие гермафродитного поколения *N. anarrichae* представляет собой непрерывный процесс, и в первом промежуточном хозяине оно не останавливается на каком-то определенном этапе, а может продолжаться вплоть до достижения червями половозрелости и начала яйцепродукции. Для этого вида потенциально возможна гомоксенная реализация жизненного цикла, с участием единственного хозяина, гастроподы *B. undatum*.

9. Основной предпосылкой сокращения путей циркуляции у *N. anarrichae* стал переход к непрерывному онтогенезу у гермафродитного поколения предковой формы. Закреплению вторично диксенного жизненного цикла способствовали интенсивные взаимоотношения «хищник-жертва» между окончательным и промежуточным хозяевами (зубатками и обыкновенным букциномом).

## Список публикаций по теме диссертации

### Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК

1. Krupenko, D., Kremnev, G., Krapivin, V. Possible progenesis in *Neophasis anarrichae* (Nicoll, 1909) Bray, 1987 in the White Sea // *Parasitology international*. – 2019. 70: 82–85 p. DOI: 10.1016/j.parint.2019.02.007.
2. Kremnev, G., Gonchar, A., Krapivin, V., Knyazeva, O., Krupenko, D. First elucidation of the life cycle in the family Brachycladiidae (Digenea), parasites of marine mammals // *International Journal for Parasitology*. – 2020. 50(12): 997–1009 p. DOI: 10.1016/j.ijpara.2020.05.011.
3. Kremnev, G., Gonchar, A., Krapivin, V., Uryadova, A., Miroljubov, A., Krupenko, D. Life cycle truncation in Digenea, a case study of *Neophasis* spp. (Acanthocolpidae) // *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. – 2021. 15: 158–172 p. DOI: 10.1016/j.ijppaw.2021.05.001.

### Тезисы докладов на конференциях

1. Крупенко Д.Ю., Кремнев Г.А., Крапивин В.А. Возможность прогенетического развития трематоды *Neophasis anarrichae* в беломорских гастроподах *Vaccinium undatum* // Современная паразитология — основные тренды и вызовы. Материалы VI Съезда Паразитологического общества: Санкт-Петербург, 15–19 октября. Санкт-Петербург. – 2018. с. 129.
2. Кремнев Г.А., Гончар А.Г., Крапивин В.А., Крупенко Д.Ю. От рыб к морским млекопитающим, или куда нас привело изучение жизненного цикла трематоды *Neophasis oculata* (Trematoda: Digenea) // Беломорская студенческая научная сессия СПбГУ— 2020: Санкт-Петербург, 6–7 февраля. Санкт-Петербург. – 2020. с. 21.
3. Кремнев Г.А., Гончар А.Г., Крапивин В.А., Илюткин С.А., Крупенко Д.Ю. Как трематоды заражают морских млекопитающих: что об этом могут рассказать жизненные циклы паразитов и пищевые предпочтения их хозяев // Морские млекопитающие Голарктики: XI международная конференция: Москва, он-лайн, 1–5 марта. Москва. – 2021. с. 51, 156.
4. Кремнев Г.А., Гончар А.Г., Крапивин В.А., Урядова А.А., Миролюбов А.А., Крупенко Д. Ю. Что представители рода *Neophasis* (Digenea: Acanthocolpidae) могут рассказать о причинах возникновения вторично двуххозяйных жизненных циклов трематод? // Беломорская студенческая научная сессия СПбГУ— 2022: Санкт-Петербург, 2 февраля. Санкт-Петербург. – 2022. с. 81.
5. Кремнев Г.А., Гончар А.Г., Крапивин В.А., Скобкина О.А., Миролюбов А.А., Белолубская К.И., Крупенко Д.Ю. Секрет эволюционного успеха трематод из семейства Brachycladiidae, паразитов морских млекопитающих // VII съезд паразитологического общества: итоги и актуальные задачи: Петрозаводск, 16–20 октября. Петрозаводск. – 2023. с. 173–174.

## Список литературы

1. Алтухов, К. А. Рыбы Белого моря / К. А. Алтухов, А.А. Михайловская, Ф. Б. Мухомедияров, В. М. Надежин, П. И. Новиков, З. Г. Паленичко. — Петрозаводск: Государственное Издательство Карельской АССР, 1958. — 162 с.
2. Галактионов, К. В. Жизненные циклы трематод как компоненты экосистем (опыт анализа на примере представителей семейства *Microphallidae*) / К. В. Галактионов. — Апатиты, 1993. — 190 с.
3. Галактионов, К. В. Гермафродитное поколение трематод / К. В. Галактионов, А. А. Добровольский. — Ленинград: Наука, Ленинградское отделение, 1987. — 193 с.
4. Галактионов К. В. Происхождение и эволюция жизненных циклов трематод / К. В. Галактионов, А. А. Добровольский. — Санкт-Петербург: Наука, 1998. — 402 с.
5. Галактионов, К. В. Эволюция морфофункциональной организации партеногенетических поколений трематод / К. В. Галактионов, А. А. Добровольский, И. М. Подвязная // Зоологический журнал. — 2014. — Т. 93. — № 3. — С. 426–442.
6. Галактионов, К. В. Эволюция и биологическая радиация трематод: краткий очерк идей и мнений / К. В. Галактионов // Коэволюция паразитов и хозяев. Санкт-Петербург, Труды ЗИН РАН. — 2016. — Т. 320. — С. 74–126.
7. Гинецинская, Т. А. Трематоды, их жизненные циклы, биология и эволюция / Т. А. Гинецинская. — Ленинград: Наука, Ленинградское отделение, 1968. — 264 с.
8. Гранович, А. И. Паразитарные системы и структура популяций паразитических организмов / А. И. Гранович // Паразитология. — 1996. — Т. 30. — № 4. — С. 343–356.
9. Делямуре, С. Л. Гельминтофауна морских млекопитающих в свете их экологии и филогении / С. Л. Делямуре. — Москва: Издательство Академии Наук СССР, 1955. — 517 с.
10. Добровольский, А. А. Партеногенетические поколения трематод / А. А. Добровольский, К. В. Галактионов, Г. К. Мухамедов, Б. К. Синха, И. А. Тихомиров. — Ленинград: Ленинградский Государственный Университет, 1983 — 108 с.
11. Добровольский, А. Д. Моря СССР / А. Д. Добровольский, Б. С. Залогин. — Москва: Московский Государственный Университет, 1982 — 192 с.
12. Догель, В. А. Паразитофауна четырехрогого бычка (*Muohoccephalus quadricornis*) в различных районах его распространения / В. А. Догель, А. Розова // Ученые записки ЛГУ, Серия биологических наук. — 1941. — Т. 18. — С. 4–19.

13. Ершов, П. Н. Структура популяции, рост и питание полосатой зубатки *Anarhichas lupus marisalbi* Barsukov, 1956 в Кандалакшском заливе Белого моря / П. Н. Ершов // Труды Зоологического института РАН. — 2016. — Т. 313. — № 3. — С. 343–356.
14. Жуков, Е. В. Эндопаразитические черви рыб Японского моря и Южно-Курильского мелководья / Е. В. Жуков // Труды ЗИН АН СССР. — 1960. — Т. 28. — С. 3–146.
15. Жуков, Е. В. Паразитофауна рыб Чукотки. Сообщение II. Эндопаразитические черви морских и пресноводных рыб / Е. В. Жуков // Паразитологический сборник. — 1963. Т. 21. — С. 96–139.
16. Иванов, А. В. Большой практикум по зоологии беспозвоночных / А. В. Иванов, Ю. И. Полянский, А. А. Стрелков. — Москва: Высшая школа, 1981 — 504 с.
17. Мамаев, Ю. Л. Паразитические черви камбаловых рыб дальневосточных морей / Ю. Л. Мамаев, А. М. Парухин, О. М. Баева. — Москва: Издательство АН СССР, 1963. — С. 82–113.
18. Мамаев, Ю. Л. Трематоды семейства *Acanthocolpidae* Lühe, 1909, от сельдевых рыб Северо-Вьетнамского залива / Ю. Л. Мамаев, П. Г. Ошмарин // *Helminthologia*. — 1966. — Т. 7. — С. 155–164.
19. Марасаев, С. Ф. Три вида церкарий из бентических моллюсков центральной и юго-восточной частей Баренцева моря / С. Ф. Марасаев // Эколого-паразитологические исследования северных морей. Апатиты. — 1984. — С. 51–59.
20. Марасаев, С. Ф. Новая рениколидная церкария из моллюска *Neptunea borealis* (Prosobranchia, Vuccinidae) / С. Ф. Марасаев // *Паразитология*. — 1988. — Т. 22. — № 3. — С. 254–258.
21. Полянский, Ю. И. Материалы по паразитологии рыб северных морей СССР. Паразиты рыб Баренцева моря / Ю. И. Полянский // Труды ЗИН АН СССР. — 1955. — Т. 19. — С. 1–170.
22. Прокофьев, В. В. Особенности плавания церкарий некоторых видов трематод / В. В. Прокофьев // *Паразитология*. — 2005. — Т. 39. — № 3. — С. 250–261.
23. Прокофьев, В. В. Стратегии поискового поведения церкарий трематод / В. В. Прокофьев, К. В. Галактионов // Труды Зоологического института РАН. — 2009. — Т. 313. — № 3. — С. 308–318.
24. Семенов, О. Ю. Мирацидии: Строение, биология и взаимоотношения с моллюсками / О. Ю. Семенов. — Ленинград: ЛГУ. — 1991. — 203 с.
25. Синицин, Д. Ф. Партеногенетическое поколение трематод и его потомство в черноморских моллюсках / Д. Ф. Синицин // Записки Императорской Академии Наук. — 1911. — Т. 30. — № 5. — С. 1–127.

26. Скрябин, К. И. Трематоды животных и человека. Основы трематодологии. Том 2 // К. И. Скрябин. Москва, Ленинград: Издательство АН СССР. — 1948. — 600 с.
27. Скрябин, К. И. Трематоды животных и человека. Основы трематодологии. Том 9. // К. И. Скрябин. Москва, Ленинград: Издательство АН СССР. — 1954. — 656 с.
28. Скрябин, А. С. Новая трематода *Cetitrema foliiformis* g. n., sp. n. — паразит печени кита Брайда / А. С. Скрябин // Паразитология. — 1970. — Т. 4. — № 1. — С. 34–38.
29. Чубрик, Г. К. Партениты и личинки трематод из моллюсков Белого моря и Восточного Мурмана: дис. ... канд. биол. наук / Г. К. Чубрик. — Л., 1956. — 273 с.
30. Чубрик, Г. К. Фауна и экология личинок трематод из моллюсков Баренцева и Белого морей / Г. К. Чубрик // Труды ММБИ. — 1996. — Т. 10. — № 14. — С. 78–158.
31. Щенков, С. В. Мукоидные железы церкарий / С. В. Щенков, С. А. Денисова, А. Д. Смирнова, Н. Н. Шунатова // Invertebrate Zoology. — 2019. — Т. 16. — № 4. — С. 377–392.
32. Юрахно, М. В. Новый вид рода ортоспланхнус - *Orthosplanchnus pygmaeus* (Trematoda, Campulidae) - паразит кита / М. В. Юрахно // Вестник зоологии. — 1967. — Т. 1. — № 3. — С. 79–82.
33. Юрахно, М. В. Новая трематода - *Orthosplanchnus oculus* sp. n. (Trematoda, Campulidae) - паразит тихоокеанского моржа / М. В. Юрахно // Вестник зоологии. — 1969. — Т. 3. — № 4. — С. 29–31.
34. Adams, A. M. Occurrence and morphological comparisons of *Campula oblonga* (Digenea: Campulidae), including a report from an atypical host, the thresher shark, *Alopias vulpinus* / A. M. Adams, E. P. Hoberg, D. F. McAlpine, S. L. Clayden // The Journal of Parasitology. — 1998. — Vol. 84. — № 2. — P. 435–438.
35. Andersen-Ranberg, E. Morphometric, molecular and histopathologic description of hepatic infection by *Orthosplanchnus arcticus* (Trematoda: Digenea: Brachycladiidae) in ringed seals (*Pusa hispida*) from Northwest Greenland / E. Andersen-Ranberg, K. Lehnert, P. S. Leifsson, R. Dietz, S. Andersen, U. Siebert, L. Measures, C. Sonne // Polar Biology. — 2018. — Vol. 41. — № 5. — P. 1019–1025.
36. Antonelis, G. A. Early spring feeding habits of bearded seals (*Erignathus barbatus*) in the central Bering Sea / G. A. Antonelis, S. R. Melin, Y. A. Bukhtiyarov // Arctic. — 1994. Vol. 47. — № 1. — P. 74–79.
37. Assis, J. C. *Biomphalaria straminea* as an Intermediate Host of a Renal Trematode Species of the Genus *Tanaisia* (Trematoda: Eucotylidae) in Brazil / J. C. Assis, H. A. Pinto // Acta Parasitologica. — 2023. — Vol. 68. — № 1. — P. 282–287.
38. Atopkin, D. M. A report on the complete mitochondrial genome of the trematode *Azygia robusta* Odhner, 1911, its new definitive host from the Russian Far East, and unexpected phylogeny of

Azygiidae within Digenea, as inferred from mitogenome sequences / D. M. Atopkin, A. A. Semenchenko, D. A. Solodovnik, Y. I. Ivashko // *Journal of Helminthology*. — 2023. — Vol. 97. № 69. — P. 1–12.

39. Bakke, T. A. A revision of the family Leucochloridiidae Poche (Digenea) and studies on the morphology of *Leucochloridium paradoxum* Carus, 1835 / T. A. Bakke // *Systematic Parasitology*. — 1980. — Vol. 1. № 3–4. — P. 189–202.

40. Barnett, L. J. Two new *Stephanostomum*-like cercariae (Digenea: Acanthocolpidae) from *Nassarius dorsatus* and *N. olivaceus* (Gastropoda: Nassariidae) in Central Queensland, Australia / L. J. Barnett, T. L. Miller, T. H. Cribb // *Zootaxa*. — 2010. — Vol. 2445. — № 1. — P. 35–52.

41. Barnett, L. J. Phenotypic plasticity of six unusual cercariae in nassariid gastropods and their relationships to the Acanthocolpidae and Brachycladiidae (Digenea) / L. J. Barnett, T. L. Miller // *Parasitology International*. — 2018. — Vol. 67. — № 2. — P. 225–232.

42. Barnett, L. J. A complex of putative acanthocolpid cercariae (Digenea) from *Nassarius olivaceus* and *N. dorsatus* (Gastropoda: Nassariidae) in Central Queensland, Australia / L. J. Barnett, L. R. Smales, T. H. Cribb // *Zootaxa*. — 2008. — Vol. 1705. — № 1. — P. 21–39.

43. Barros, N. B. Diet. Encyclopedia of marine mammals, 2nd edition / N. B. Barros, M. R. Clarke. London: Academic Press. — 2009. — P. 311–316.

44. Bartoli, P. Four species of *Stephanostomum* Looss, 1899 (Digenea: Acanthocolpidae) from *Seriola dumerili* (Risso) (Teleostei: Carangidae) in the western Mediterranean, including *S. euzeti* n. sp. / P. Bartoli, R. A. Bray // *Systematic Parasitology*. — 2004. — Vol. 58. — № 1. — P. 41–62.

45. Bartoli, P. A new acanthocolpid cercaria (Digenea) from *Cantharus dorbignyi* (Prosobranchia) in the Western Mediterranean / P. Bartoli, D. I. Gibson // *Systematic Parasitology*. — 1998. — Vol. 40. — № 3. — P. 175–184.

46. Bartoli, P. The life cycle of *Monorchis parvus* (Digenea: Monorchiidae) demonstrated by developmental and molecular data / P. Bartoli, O. Jousson, F. Russell-Pinto // *Journal of Parasitology*. — 2000. — Vol. 86. — № 3. — P. 479–489.

47. Bennett, J. Tracking life cycles of parasites across a broad taxonomic scale in a marine ecosystem / J. Bennett, B. Presswell, R. Poulin // *International Journal for Parasitology*. — 2023. — Vol. 53. — № 5–6. — P. 285–303.

48. Beuret, J. Description of a new zygoecercous cercaria (Opisthorchioidea: Heterophyidae) from prosobranch gastropods collected at Heron Island (Great Barrier Reef, Australia) and a review of zygoecercariae / J. Beuret, J. C. Pearson // *Systematic Parasitology*. — 1994. — Vol. 27. — № 2. — P. 105–125.

49. Blasco-Costa, I. Molecular approaches to trematode systematics: 'best practice' and implications for future study / I. Blasco-Costa, S. C. Cutmore, T. L. Miller, M. J. Nolan // *Systematic Parasitology*. — 2016. — Vol. 93. — № 3. — P. 295–306.
50. Blasco-Costa, I. Parasite life-cycle studies: a plea to resurrect an old parasitological tradition / I. Blasco-Costa, R. Poulin // *Journal of helminthology*. — 2017. — Vol. 91. — № 6. — P. 647–656.
51. Borsetti, S. Spatial variation in life history characteristics of waved whelk (*Buccinum undatum* L.) on the US Mid-Atlantic continental shelf / S. Borsetti, D. Munroe, D. B. Rudders, C. Dobson, E. A. Bochenek // *Fisheries research*. — 2018. — Vol. 198. — P. 129–137.
52. Bowles, J. Nuclear and mitochondrial genetic markers highly conserved between Chinese and Philippine *Schistosoma japonicum* / J. Bowles, M. Hope, W. U. Tiu, X. Liu, D. P. McManus // *Acta tropica*. — 1993. — Vol. 55. — № 4. — P. 217–229.
53. Bray, R. A. A study of the helminth parasites of *Anarhichas lupus* (Perciformes: Anarhichadidae) in the North Atlantic / R. A. Bray // *Journal of fish biology*. — 1987. — Vol. 31. — № 2. — P. 237–264.
54. Bray, R. A. Family Acanthocolpidae Lühe, 1906. In: Jones, A., Gibson, R.A., Gibson, D.I. (Ed.), *Keys to the Trematoda, vol 2* / R. A. Bray. London: CAB International and The Natural History Museum. — 2005. — P. 603–619.
55. Bray, R. A. *Venusicola inusitatus* gen. n., sp. n. (Digenea, Acanthocolpidae) from the Venus tuskfish *Choerodon venustus* (De Vis) from the southern Great Barrier Reef / R. A. Bray, T. H. Cribb // *Acta Parasitologica*. — 2000. — Vol. 45. — № 4. — P. 295–298.
56. Bray, R. A. *Tormopsolus attenuatus* n. sp. (Digenea: Acanthocolpidae) from *Seriola hippos* (Perciformes: Carangidae), Western Australia, with some observations on the relationships in the genus / R. A. Bray, T. H. Cribb // *Systematic Parasitology*. — 2001. — Vol. 50. — № 2. — P. 91–99.
57. Bray, R. A. The Acanthocolpidae (Digenea) of fishes from the north-east Atlantic: the status of *Neophasis* Stafford, 1904 (Digenea) and a study of North Atlantic forms / R. A. Bray, D. I. Gibson // *Systematic Parasitology*. — 1991. — Vol. 19. — № 2. — P. 95–117.
58. Bray, R. A. Acanthocolpidae (Digenea) of marine fishes off New Caledonia, with the descriptions of two new species / R. A. Bray, J. L. Justine // *Folia Parasitologica*. — 2011. — Vol. 58. — № 1. — P. 35–47.
59. Bray, R. A. Further reports of Acanthocolpidae Lühe, 1906 (Digenea) from fishes off New Caledonia, with descriptions of two new species / R. A. Bray, J. L. Justine // *Systematic Parasitology*. — 2012. — Vol. 83. — P. 39–50.

60. Bray, R. A. Relationships within the Acanthocolpidae Lühe, 1906 and their place among the Digenea / R. A. Bray, B. L. Webster, P. Bartoli, D. T. J. Littlewood // *Acta Parasitologica*. — 2005. — Vol. 50. — № 4. — P. 281–291.
61. Briscoe, A. G. The mitochondrial genome and ribosomal operon of *Brachycladium goliath* (Digenea: Brachycladiidae) recovered from a stranded minke whale / A. G. Briscoe, R. A. Bray, J. Brabec, D. T. J. Littlewood // *Parasitology International*. — 2016. — Vol. 65. — № 3. — P. 271–275.
62. Brooks, D. R. Aspects of the phylogeny of the Trematoda Rudolphi, 1808 (Platyhelminthes: Cercomeria) / D. R. Brooks, S. M. Bandoni, C. A. Macdonald, R. T. O'Grady // *Canadian Journal of Zoology*. — 1989. — Vol. 67. — № 11. — P. 2609–2624.
63. Brooks, D. R. Phylogenetic analysis of the Digenea (Platyhelminthes: Cercomeria) with comments on their adaptive radiation / D. R. Brooks, R. T. O'Grady, D. R. Glen // *Canadian Journal of Zoology*. — 1985. — Vol. 63. — № 2. — P. 411–443.
64. Cable, R. M. Marine cercariae of Puerto Rico / R. M. Cable // *Scientific Survey of Puerto Rico and the Virgin Islands*. — 1956. — Vol. 16. — № 4. — P. 491–577.
65. Cable, R. M. Marine cercariae from Curaçao and Jamaica / R. M. Cable // *Zeitschrift für Parasitenkunde*. — 1963. — Vol. 23. — № 5. — P. 429–469.
66. Cable, R. M. Phylogeny and taxonomy of trematodes with reference to marine species. In: Vernberg, W. B. (Ed.), *Symbiosis in the Sea* / R. M. Cable. South Carolina: University of South Carolina Press. — 1974. — P. 173–193.
67. Chambellant, M. Temporal variation in western Hudson Bay ringed seal *Phoca hispida* diet in relation to environment / M. Chambellant, I. Stirling, S. H. Ferguson // *Marine Ecology Progress Series*. — 2013. — Vol. 481. — P. 269–287.
68. Chapman, H. D. The propulsion of the cercariae of *Himasthla secunda* (Nicoll) and *Cryptocotyle lingua* / H. D. Chapman, R. A. Wilson // *Parasitology*. — 1973. — Vol. 67. — № 1. — P. 1–15.
69. Choi, Y. PROVEAN web server: a tool to predict the functional effect of amino acid substitutions and indels / Y. Choi, A. P. Chan // *Bioinformatics*. — 2015. — Vol. 31. — № 16. — P. 2745–2747.
70. Coil, W. H. Three new genera of trematodes from Pacific sea serpents, *Laticauda colubrina* and *L. semifasciata* / W. H. Coil, R. E. Kuntz // *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. — 1960. — Vol. 27. — № 2. — P. 145–150.
71. Collins III, J. J. An atlas for *Schistosoma mansoni* organs and life-cycle stages using cell type-specific markers and confocal microscopy / J. J. Collins III, R. S. King, A. Cogswell, D. L. Williams, P. A. Newmark // *PLoS neglected tropical diseases*. — 2011. — Vol. 5. — № 3. — P. e1009.



72. Combes, C. Behaviours in trematode cercariae that enhance parasite transmission: patterns and processes / C. Combes, A. Fournier, H. Moné, A. Théron // *Parasitology*. — 1994. — Vol. 109. — № S1. — P. S3–S13.
73. Cribb, T. H. The nature and evolution of the association among digeneans, molluscs and fishes / T. H. Cribb, R. A. Bray, D. T. J. Littlewood // *International Journal for Parasitology*/ — 2001. — Vol. 31. — № 9. — P. 997–1011.
74. Cribb, T. H. Trematode families and genera: have we found them all? / T. H. Cribb, R. A. Bray // *Trends in Parasitology*. — 2011. — Vol. 27. — № 4. — P. 149–154.
75. Cribb, T. H. The biodiversity of marine trematodes: then, now and in the future / T. H. Cribb, S. C. Cutmore, R. A. Bray // *International Journal for Parasitology*. — 2021. — Vol. 51. — № 13–14. — P. 1085–1097.
76. Curran, S. S. Confirmation of *Pseudolepidapedon balistis* in the Acanthocolpidae (Digenea) based on phylogenetic analysis of ribosomal DNA / S. S. Curran, E. E. Pulis // *The Journal of Parasitology*. — 2014. — Vol. 100. — № 6. — P. 856–859.
77. Dailey, M. D. A survey of helminth parasites in the squid, *Loligo opalescens*, smelt, *Osmerus mordax*, jack mackerel, *Trachurus symmetricus*, and Pacific mackerel, *Scomber japonicus* / M. D. Dailey // *California Fish and Game*. — 1969. — Vol. 55. — №3. — P. 221–226.
78. Dailey, M. D. A new species of *Hunterotrema* (Digenea: Campulidae) from the Amazon river dolphin (*Inia geoffrensis*) / M. D. Dailey // *Bulletin Southern California Academy of Sciences*. — 1971. — Vol. 70. — P. 79–80.
79. Dailey, M. D. A new species of Digenea (Trematoda: Brachycladiidae) from the Gervais' beaked whale, *Mesoplodon europaeus*, with comments on other cetacean liver flukes / M. D. Dailey // *Comparative parasitology*. — 2007. — Vol. 74. — № 2. — P. 229–232.
80. De Benedetto, G. First report of *Stephanostomum cesticillus* (Molin, 1858) Looss, 1899 in *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758) from the Tyrrhenian Sea (Southern Italy) / G. De Benedetto, C. Gervasi, K. Riolo, J. M. Abbate, S. Natale, D. Di Paola, R. Falletti, C. Iaria // *Frontiers in Marine Science*. — 2023. — Vol. 10, — P. 1178977.
81. Deblock, S. Inventaire des trématodes larvaires parasites des mollusques *Hydrobia* (Prosobranches) des côtes de France / S. Deblock // *Parassitologia*. — 1980. — Vol. 22. — P. 1–105.
82. Denisova, S. A. New data on the nervous system of *Cercaria parvicaudata* Stunkard & Shaw, 1931 (Trematoda: Rencolidae): revisiting old hypotheses / S. A. Denisova, S. V. Shchenkov // *Journal of Helminthology*. — 2020. — Vol. 94. — № 52. — P. 1–11.
83. Ellis, J. R. Demersal assemblages in the Irish Sea, St George's channel and Bristol channel / J. R. Ellis, S. I. Rogers, S. M. Freeman // *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. — 2000. — Vol. 51. — № 3. — P. 299–315.

84. Elson, J. G. Ultrastructural and behavioral study of the miracidia of *Zalophotrema hepaticum* (Digenea: Campulidae) from the California sea lion, *Zalophus californianus*: Thesis for Master of science degree / J. G. Elson. — California, 1995.
85. Falk-Petersen, I. B. Size, locality and seasonally related feeding preferences of common wolffish (*Anarhichas lupus* L.) from north-Norwegian waters / I. B. Falk-Petersen, P. Kanapathippilai, R. Primicerio, T. K. Hansen // *Marine Biology Research*. — 2010. — Vol. 6. — № 2. — P. 201–212.
86. Faltýnková, A. Prey-mimetism in cercariae of *Apatemon* (Digenea, Strigeidae) in freshwater in northern latitudes / A. Faltýnková, O. Kudlai, C. Pantoja, D. Jouet, K. Skírnisson // *Parasitology Research*. — 2023. — Vol. 122. — № 3. — P. 815–831.
87. Faltýnková, A. Larval trematodes (Digenea) of planorbid snails (Gastropoda: Pulmonata) in Central Europe: a survey of species and key to their identification / A. Faltýnková, V. Našincová, L. Kablásková // *Systematic parasitology*. — 2008. Vol. 69. — № 3. — P. 155–178.
88. Fernández, M. Phylogenetic relationships of the family Campulidae (Trematoda) based on 18S rRNA sequences / M. Fernandez, D. T. J. Littlewood, A. Latorre, J. A. Raga, D. Rollinson // *Parasitology*. — 1998a. — Vol. 117, — № 4. — P. 383–391.
89. Fernández, M. Molecular phylogeny of the families Campulidae and Nasitremitidae (Trematoda) based on mtDNA sequence comparison / M. Fernandez, F. J. Aznar, A. Latorre, J. A. Raga // *International Journal for Parasitology*. — 1998b. — Vol. 29. — № 5. — P. 767–775.
90. Fraija-Fernández, N. Evolutionary relationships between digeneans of the family Brachycladiidae Odhner, 1905 and their marine mammal hosts: A cophylogenetic study / N. Fraija-Fernández, F. J. Aznar, A. Fernández, J. A. Raga, M. Fernández // *Parasitology international*. — 2016. — Vol. 65. — № 3. — P. 209–217.
91. Fraija-Fernández, N. Independent host switching events by digenean parasites of cetaceans inferred from ribosomal DNA / N. Fraija-Fernández, P. D. Olson, E. A. Crespo, J. A. Raga, F. J. Aznar, M. Fernández // *International Journal for Parasitology*. — 2015. — Vol. 45. — № 2–3. — P. 167–173.
92. Galaktionov, K. V. Patterns and processes influencing helminth parasites of Arctic coastal communities during climate change / K. V. Galaktionov // *Journal of Helminthology*. — 2017. — Vol. 91. — № 4. — P. 387–408.
93. Galaktionov, K. V. *Microphallus ochotensis* sp. nov. (Digenea, Microphallidae) and relative merits of two-host microphallid life cycles / K. V. Galaktionov, I. Blasco-Costa // *Parasitology Research*. — 2018. — Vol. 117. — № 4. — P. 1051–1068.
94. Galaktionov, K. V. Life cycles, molecular phylogeny and historical biogeography of the '*pygmaeus*' microphallids (Digenea: Microphallidae): widespread parasites of marine and coastal birds

in the Holarctic / K. V. Galaktionov, I. Blasco-Costa, P. D. Olson // *Parasitology*. — 2012. — Vol. 139. — № 10. — P. 1346–1360.

95. Galaktionov, K. V. The glands of trematode cercariae of the family Microphallidae Travassos, 1920 / K. V. Galaktionov, I. I. Malkova // *International journal for parasitology*. — 1994. — Vol. 24. — № 4. — P. 595–604.

96. Galaktionov, K. V. The structure and formation of metacercarial cysts in the trematode family Microphallidae Travassos 1920 / K. V. Galaktionov, I. I. Malkova, S. W. B. Irwin, D. H. Saville, J. G. Maguire // *Journal of Helminthology*. — 1997. — Vol. 71. — № 1. — P. 13–20.

97. Galaktionov, K. V. Overview of renicolid digeneans (Digenea, Rencolidae) from marine gulls of northern Holarctic with remarks on their species statuses, phylogeny and phylogeography / K. V. Galaktionov, A. I. Solovyeva, A. M. Blakeslee, K. Skírnisson // *Parasitology*. — 2023. — Vol. 150. — № 1. — P. 55–77.

98. Gibson, D. I. Trematodes in marine mammals: morphology, systematics and origins. In: *Proceedings of the 10th International Congress of Parasitology: Symposia, Workshops and Contributed papers* / D. I. Gibson. Canada: Vancouver, August 4–9. — 2002. — P. 59–63.

99. Gibson, D. I. Family Brachycladiidae (Odhner, 1905). In: Jones, A., Gibson, R.A., Gibson, D.I. (Ed.), *Keys to the Trematoda, vol 2* / D. I. Gibson. London: CAB International and The Natural History Museum. — 2005. — P. 641–652.

100. Gilardoni, C. Cryptic speciation of the zoogonid digenean *Diphtherostomum flavum* n. sp. demonstrated by morphological and molecular data / C. Gilardoni, J. Etchegoin, T. Cribb, S. Pina, P. Rodrigues, M. E. Diez, F. Cremonte // *Parasite*. — 2020. — Vol. 27. — № 44. — P. 1–11.

101. Gnana Mani, G. Studies on Indian marine cercariae: a new acanthocolpid cercaria / G. Gnana Mani // *Indian Journal of Parasitology*. — 1994. — Vol. 18. — № 1. — P. 75–78.

102. Golikov, A. N. Distribution and variability of long-lived benthic animals as indicators of currents and hydrological conditions / A. N. Golikov // *Sarsia*. — 1968. — Vol. 34. — № 1. — P. 199–208.

103. Gonchar, A. Life cycle and biology of *Tristriata anatis* (Digenea: Notocotylidae): morphological and molecular approaches / A. Gonchar, K. V. Galaktionov // *Parasitology Research*. — 2017. — Vol. 116. — № 1. — P. 45–59.

104. Gonchar, A. It is marine: distinguishing a new species of *Catatropis* (Digenea: Notocotylidae) from its freshwater twin / A. Gonchar, K. V. Galaktionov // *Parasitology*. — 2021. — Vol. 148. — № 1. — P. 74–83.

105. Gordeev, I. I. Macroparasites of epipelagic and eurybathic fishes in the north-western Pacific / I. I. Gordeev, S. G. Sokolov // *Invertebrate Zoology*. — 2020. — Vol. 17. — № 2. — P. 118–132.

106. Gould, S. J. *Ontogeny and Phylogeny* / S. J. Gould. Cambridge: Harvard University Press. — 1977. — 268 p.
107. Grano-Maldonado, M. I. First record of *Stephanostomum* sp. Looss, 1899 (Digenea: Acanthocolpidae) metacercariae parasitising the pleasure oyster *Crassostrea corteziensis* (Hertlein) from the Mexican Pacific coast / M. I. Grano-Maldonado, F. Rubalcava-Ramirez, A. Rodriguez-Santiago, F. Garcia-Vargas, A. Medina-Jasso, M. Nieves-Soto // *Helminthologia*. — 2019. — Vol. 56. — № 3. — P. 211–218.
108. Gupta, R. A Discussion of the Trematode Genus *Pleorchis* Railliet, 1896 (Digenea: Pleorchiidae Poche, 1926) With Description of Two New Species From the Intestine of Marine Fishes From the Indian Ocean / R. Gupta, S. Johri, S. Chandra, A. M. Saxena // *Pakistan Journal of Zoology*. — 2011. — Vol. 43. — № 1. — P. 191–199.
109. Hafeezullah, M. On some new and known digenetic trematodes from marine fishes of India / M. Hafeezullah // *Journal of Helminthology*. — 1971. — Vol. 45. — № 1. — P. 73–88.
110. Hafeezullah, M. Remarks on some known species of digenetic trematodes (Digenea: Acanthocolpidae Luhe, 1909) from marine fishes of India / M. Hafeezullah // *Records of the Zoological Survey of India*. — 1991. — Vol. 88. — № 1. — P. 105–114.
111. Hendrickson, G. L. *Cercaria laramiensis* sp. n., a freshwater zygo-cercous cercaria from *Physa gyrina* Say, with a discussion of cercarial aggregation / G. L. Hendrickson, N. Kingston // *The Journal of Parasitology*. — 1974. — Vol. 60. — № 5. — P. 777–781.
112. Herrmann, K. K. Encystment site affects the reproductive strategy of a progenetic trematode in its fish intermediate host: is host spawning an exit for parasite eggs? / K. K. Herrmann, R. Poulin // *Parasitology*. — 2011. — Vol. 138. — № 9. — P. 1183–1192.
113. Hernández-Mena, D. I. Filling the gaps in the classification of the Digenea Carus, 1863: systematic position of the Proterodiplostomidae Dubois, 1936 within the superfamily Diplostomoidea Poirier, 1886, inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequences / D. I. Hernández-Mena, M. García-Varela, G. Pérez-Ponce de León // *Systematic parasitology*. — 2017. — Vol. 94. — P. 833–848.
114. Hjelset, A. M. Feeding habits of bearded seals (*Erignathus barbatus*) from the Svalbard area, Norway / A. M. Hjelset, M. Andersen, I. Gjertz, C. Lydersen, B. Gulliksen // *Polar Biology*. — 1999. — Vol. 21. — P. 186–193.
115. Holliman, R. B. Larval trematodes from the Apalachee Bay area, Florida, with a checklist of known marine cercariae arranged in a key to their superfamilies / R. B. Holliman // *Tulane Studies in Zoology*. — 1961. — Vol. 9. — № 1. — P. 1–74.
116. Holst, M. Diet of ringed seals (*Phoca hispida*) on the east and west sides of the North Water Polynya, northern Baffin Bay / M. Holst, I. Stirling, K. A. Hobson // *Marine Mammal Science* // — 2001. — Vol. 17. — № 4. — P. 888–908.

117. Huelsken, T. The Naticidae (Mollusca: Gastropoda) of Giglio Island (Tuscany, Italy): Shell characters, live animals, and a molecular analysis of egg masses / T. Huelsken, C. Marek, S. Schreiber, I. Schmidt, M. Hollmann // *Zootaxa*. — 2008. — Vol. 1770. — № 1. — P. 1–40.
118. Kim, S. Novel morphological and molecular data for *Nasitrema* spp. (Digenea: Brachycladiidae) in the East Asian finless porpoise (*Neophocaena asiaeorientalis sunameri*) / S. Kim, H. Youn, K. Lee, H. Lee, M. J. Kim, Y. Kang, S. Choe, S. Georgieva // *Frontiers in Marine Science*. — 2023. — Vol. 10. — P. 1187451.
119. Køie, M. On the endoparasites of *Buccinum undatum* L. with special reference to the trematodes / M. Køie // *Ophelia*. — 1969. — Vol. 6. — № 1. — P. 251–279.
120. Køie, M. On the histochemistry and ultrastructure of the redia of *Neophasis lageniformis* (Lebour, 1910) (Trematoda, Acanthocolpidae) / M. Køie // *Ophelia*. — 1971. — Vol. 9. — № 1. — P. 113–143.
121. Køie, M. The host-parasite interface and associated structures of the cercaria and adult *Neophasis lageniformis* (Lebour, 1910) / M. Køie // *Ophelia*. — 1973. — Vol. 12. — № 1–2. — P. 205–219.
122. Køie, M. Stereoscan studies of cercariae, metacercariae, and adults of *Cryptocotyle lingua* (Creplin 1825) Fiscoeder 1903 (Trematoda: Heterophyidae) / M. Køie // *The Journal of parasitology*. — 1977. — Vol. 63. — № 5. — P. 835–839.
123. Køie, M. On the morphology and life-history of *Stephanostomum caducum* (Looss 1901) Manter 1934 (Trematoda, Acanthocolpidae) / M. Køie // *Ophelia*. — 1978. — Vol. 17. — № 1. — P. 121–133.
124. Køie, M. On the morphology and life-history of *Derogenes varicus* (Müller, 1784) Looss, 1901 (Trematoda, Hemiuridae) / M. Køie // *Zeitschrift für Parasitenkunde*. — 1979. — Vol. 59. — P. 67–78.
125. Køie, M. Digenetic trematodes from *Limanda limanda* (L.) (Osteichthyes, Pleuronectidae) from Danish and adjacent waters, with special reference to their life-histories / M. Køie // *Ophelia*. — 1983. — Vol. 22. — № 2. — P. 201–228.
126. Krasnova, V. V. Parental behavior of the beluga whale (*Delphinapterus leucas*) in natural environment / V. V. Krasnova, A. D. Chernetsky, A. I. Zheludkova, V. M. Bel'kovich // *Biology Bulletin*. — 2014. — Vol. 41. — P. 349–356.
127. Kremnev, G. First elucidation of the life cycle in the family Brachycladiidae (Digenea), parasites of marine mammals / G. Kremnev, A. Gonchar, V. Krapivin, O. Knyazeva, D. Krupenko // *International Journal for Parasitology*. — 2020. — Vol. 50. — № 12. — P. 997–1009.

128. Kremnev, G. Life cycle truncation in Digenea, a case study of *Neophasis* spp. (Acanthocolpidae) / G. Kremnev, A. Gonchar, V. Krapivin, A. Uryadova, A. Mirolubov, D. Krupenko // *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. — 2021. — Vol. 15. — P. 158–172.
129. Kremnev, G. No Tail No Fail: Life Cycles of the Zoogonidae (Digenea) / G. Kremnev, A. Gonchar, A. Uryadova, V. Krapivin, O. Skobkina, A. Gubler, D. Krupenko // *Diversity*. — 2023. — Vol. 15. — № 1. — P. 121.
130. Krupenko, D. Musculature arrangement and locomotion in notocotyloid cercariae (Digenea: Notocotylidae) from mud snail *Ecrobia ventrosa* (Montagu, 1803) / D. Krupenko, A. Gonchar // *Parasitology International*. — 2017. — Vol. 66. — № 3 — P. 262–271.
131. Krupenko, D. Possible progenesis in *Neophasis anarrhichae* (Nicoll, 1909) Bray, 1987 in the White Sea / D. Krupenko, G. Kremnev, V. Krapivin // *Parasitology International*. — 2019. — Vol. 70. — P. 82–85.
132. Krupenko, D. New data on life cycles for three species of Fellodistomidae (Digenea) in the White Sea / D. Krupenko, A. Uryadova, A. Gonchar, G. Kremnev, V. Krapivin // *New data on life cycles for three species of Fellodistomidae (Digenea) in the White Sea*. — 2020. — *Journal of Helminthology*. — Vol. 94. — № e158. — P. 1–8.
133. Krupenko, D. Polymorphic parasitic larvae cooperate to build swimming colonies luring hosts / D. Krupenko, A. Mirolubov, E. Kryukov, L. Faure, R. Minemizu, L. Haag, M. Lundgren, P. Kameneva, M. E. Kastriti, I. Adameyko // *Current Biology*. — 2023. — Vol. 33 — № 20. — P. 4524–4531.
134. Labansen, A. L. Spring diet of ringed seals (*Phoca hispida*) from northwestern Spitsbergen, Norway / A. L. Labansen, C. Lydersen, T. Haug, K. M. Kovacs // *ICES journal of marine science*. — 2007. — Vol. 64. — № 6. — P. 1246–1256.
135. Lagrue, C. Life cycle abbreviation in the trematode *Coitocaecum parvum*: can parasites adjust to variable conditions? / C. Lagrue, R. Poulin // *Journal of Evolutionary Biology*. — 2007. — Vol. 20. — № 3. — P. 1189–1195.
136. Lagrue, C. Life cycle abbreviation in trematode parasites and the developmental time hypothesis: is the clock ticking? / C. Lagrue, R. Poulin // *Journal of Evolutionary Biology*. — 2009. — Vol. 22. — № 8. — P. 1727–1738.
137. La Rue, G. R. The classification of digenetic Trematoda: a review and a new system / G. R. La Rue // *Experimental Parasitology*. — 1957. — Vol. 6. — № 3. — P. 306–349.
138. Lebour, M. V. *Acanthopsolus lageniformis*, n. sp., a trematode in the catfish / M. V. Lebour // *Northumberland Sea Fisheries Committee. In: Report on the Scientific Investigations for the Year 1909, and to June 15th*. — 1910. — P. 29–35.

139. Lebour, M. V. A review of the British marine cercariae / M. V. Lebour // *Parasitology*. — 1911. — Vol. 4. — № 4. — P. 416–456.
140. Lefebvre, F. Progenesis in digenean trematodes: a taxonomic and synthetic overview of species reproducing in their second intermediate hosts / F. Lefebvre, R. Poulin // *Parasitology*. — 2005. — Vol. 130. — № 4. — P. 587–605.
141. Leung, T. L. Trematode parasites of Otago Harbour (New Zealand) soft-sediment intertidal ecosystems: Life cycles, ecological roles and DNA barcodes / T. L. Leung, K. M. Donald, D. B. Keeney, A. V. Koehler, R. C. Peoples, R. Poulin // *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. — 2009. — Vol. 43. — № 4. — P. 857–865.
142. Levinsen, G. M. R. Bidrag til kundskap om Gronlands trematodfauna / G. M. R. Levinsen // *Oversigt over det kongelige Dansk videnskadernes Selskabs Forhandlinger*. — 1881. — Vol. 23. — P. 52–84.
143. Littlewood, D. T. J. The evolution of parasitism in flatworms. In: *Parasitic flatworms: molecular biology, biochemistry, immunology and physiology* / D. T. J. Littlewood. Wallingford UK: CABI. — 2006. — P. 1–36.
144. Loos-Frank, B. Zur kenntnis der gymnophalliden Trematoden des Nordseeraumes / B. Loos-Frank // *Zeitschrift für Parasitenkunde*. — 1969. — Vol. 32. — № 2. — P. 135–156.
145. Louvard, C. Evidence that host ecology drives first intermediate host use in the Didymozoidae (Trematoda: Hemiuroidea): an asexual infection in a vermetid (Gastropoda) / C. Louvard, R. D. Corner, S. C. Cutmore, T. H. Cribb // *Journal of Helminthology*. — 2022. — Vol. 96. — № e88. — P. 1–11.
146. Lowry, L. F. Feeding of bearded seals in the Bering and Chukchi Seas and trophic interaction with Pacific walruses / L. F. Lowry, K. J. Frost, J. J. Burns // *Arctic*. — 1980. — Vol. 33. — № 2. — P. 330–342.
147. Lühe, M. On the trematode parasites from the marine fishes of Ceylon / M. Lühe // *Report to the government of Ceylon on the pearl oyster fisheries of the gulf of Manaar*. — 1906. — Vol. 5. — P. 97–108.
148. Luton, K. Comparisons of ribosomal internal transcribed spacers from two congeneric species of flukes (Platyhelminthes: Trematoda: Digenea) / K. Luton, D. Walker, D. Blair // *Molecular and Biochemical Parasitology*. — 1992. — Vol. 56. — № 2. — P. 323–327.
149. Madhavi, R. Cercariae and metacercariae of *Stephanostomum cloacum* (Trematoda: Acanthocolpidae) / R. Madhavi, U. Shameem // *International Journal for Parasitology*. — 1993. — Vol. 23. — № 3. — P. 341–347.

150. MacKenzie, K. Some aspects of the biology of the cercaria and metacercaria of *Stephanostomum baccatum* (Nicoll, 1907) Manter, 1934 (Digenea: Acanthocolpidae) / K. MacKenzie, J. M. Liversidge // *Journal of Fish Biology*. — 1975. — Vol. 7. — № 2. — P. 247–256.
151. Marigo, J. Redescription of *Synthesium pontoporiae* n. comb. with notes on *S. tursionis* and *S. seymouri* n. comb. (Digenea: Brachycladiidae Odhner, 1905) / J. Marigo, A. L. Paulo Vicente, A. L. Schifino Valente, L. Measures, C. Portes Santo // *Journal of Parasitology*. — 2008. — Vol. 94. — № 2. — P. 505–514.
152. Marigo, J. The *Synthesium* Brachycladiidae Odhner, 1905 (Digenea) association with hosts based on nuclear and mitochondrial genes / J. Marigo, C. C. Thompson, C. P. Santos, A. M. Iñiguez // *Parasitology International*. — 2011. — Vol. 60. — № 4. — P. 530–533.
153. Martin, W. E. Studies on the trematodes of Woods Hole: II. The life cycle of *Stephanostomum tenue* (Linton) / W. E. Martin // *The Biological Bulletin*. — 1939. — Vol. 77. — № 1. — P. 65–73.
154. Martin, W. E. *Cercaria gorgonocephala* Ward, 1916, a zygocercous species in northwestern United States / W. E. Martin // *Transactions of the American Microscopical Society*. — 1968. — Vol. 87 — № 4. — P. 472–476.
155. Martin, W. E. *Cercaria buchmanani* n. sp., an aggregating marine trematode / W. E. Martin, V. L. Gregory // *Transactions of the American Microscopical Society*. — 1951. — Vol. 50. — № 4. — P. 359–362.
156. McIntosh, A. A new campulid trematode, *Hunterotrema caballeroi*, n.g. n.sp. from an Amazon dolphin, *Inia geoffrensis*. In: *Sobretiro del libro Homenaje al Doctor Eduardo Caballero y Caballero* / A. McIntosh. Mexico: Instituto Politecnico Nacional, Mexico, D.F. — 1960. — P. 207–208.
157. Miller Jr, H. M. The seasonal infestation of *Nassa obsoleta* (Say) with larval trematodes / H. M. Miller Jr, F. E. Northup // *The Biological Bulletin*. — 1926. — Vol. 50. — № 6. — P. 490–508.
158. Möhl, K. Biology of *Alaria* spp. and human exposition risk to *Alaria* mesocercariae—a review / K. Möhl, K. Große, A. Hamedy, T. Wüste, P. Kabelitz, E. Lücker // *Parasitology Research*. — 2009. — Vol. 105. — P. 1–15.
159. Morgan, J. A. T. Nuclear rDNA ITS sequence variation in the trematode genus *Echinostoma*: an aid to establishing relationships within the 37-collar-spine group / J. A. T. Morgan, D. Blair // *Parasitology*. — 1995. — Vol. 111. — № 5. — P. 609–615.
160. Nadakal, A. M. Chemical nature of cercarial eye-spot and other tissue pigments / A. M. Nadakal // *The Journal of Parasitology*. — 1960. — Vol. 46. — № 4. — P. 475–483.
161. Nahhas, F. M. Digenetic and aspidogastrid trematodes from marine fishes of Curaçao and Jamaica / F. M. Nahhas, R. M. Cable // *Tulane Studies in Zoology*. — 1964. — Vol. 11. — № 4. — P. 169–228.



162. Nakagun, S. Prominent hepatic ductular reaction induced by *Oschmarinella macrorchis* in a Hubbs' beaked whale *Mesoplodon carlhubbsi*, with biological notes / S. Nakagun, A. Shiozaki, M. Ochiai, A. Matsuda, Y. Tajima, T. Matsuishi, K. Watanabe, N. Horiuchi, Y. Kobayashi // Diseases of aquatic organisms. — 2018. — Vol. 127. — № 3. — P. 177–192.
163. Nielsen, C. Observations on *Buccinum undatum* L. attacking bivalves and on prey responses, with a short review on attack methods of other prosobranchs / C. Nielsen // Ophelia. — 1974. — Vol. 13. — № 1–2. — P. 87–108.
164. Novobilský, A. *Lymnaea palustris* and *Lymnaea fuscus* are potential but uncommon intermediate hosts of *Fasciola hepatica* in Sweden / A. Novobilský, M. Kašný, L. Beran, D. Rondelaud, J. Höglund // Parasites & Vectors. — 2013. — Vol. 6. — P. 1–10.
165. Odhner, T. Die Trematoden des arktischen Gebietes / T. Odhner // Fauna Arctica. — 1905. — Vol. 4. — P. 289–372.
166. Oliveira, K. The occurrence and pathological effects of *Stephanostomum tenue* (Digenea: Acanthocolpidae) metacercariae in elvers of the American eel / K. Oliveira, R. A. Campbell // Journal of fish biology. — 1998. — Vol. 53. — № 3. — P. 690–692.
167. Olson, R. E. Histopathology of the trematode *Stephanostomum* sp. in rex sole, *Glyptocephalus zachirus* / R. E. Olson, J. R. Pierce // Transactions of the American Microscopical Society. — 1991. — Vol. 110. — № 1. — P. 75–79.
168. Olson, P. D. Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda) / P. D. Olson, T. H. Cribb, V. V. Tkach, R. A. Bray, D. T. J. Littlewood // International journal for parasitology. — 2003. — Vol. 33. — № 7. — P. 733–755.
169. Overstreet, R. M. Digenetic trematodes in cephalopods / R. M. Overstreet, F. G. Hochberg // Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. — 1975. — Vol. 55. — № 4. — P. 893–910.
170. Pearson, J. C. Observations on the morphology and life cycle of *Strigea elegans* Chandler & Rausch, 1947 (Trematoda: Strigeidae) / J. C. Pearson // The Journal of Parasitology. — 1959. — Vol. 45. — № 2. — P. 155–174.
171. Pérez-del Olmo, A. Descriptions of some unusual digeneans from *Boops boops* L. (Sparidae) and a complete checklist of its metazoan parasites / A. Pérez-del Olmo, M. Fernández, D. I. Gibson, J. A. Raga, A. Kostadinova // Systematic Parasitology. — 2007. — Vol. 66. — P. 137–157.
172. Pérez-Ponce de León, G. Testing the higher-level phylogenetic classification of Digenea (Platyhelminthes, Trematoda) based on nuclear rDNA sequences before entering the age of the 'next-generation' Tree of Life / G. Pérez-Ponce de León, D. Hernández-Mena // Journal of Helminthology. — 2019. — Vol. 93. — № 3. — P. 260–276.

173. Perez-Urbiola, J. C. *Stephanostomum* sp. (Trematoda: Acanthocolpidae), the cause of "pimientilla" disease in catarina scallop *Argopecten ventricosus (circularis)* (Sowerby II, 1842) in Baja California Sur, Mexico / J. C. Perez-Urbiola, S. F. Martinez-Diaz // *Journal of Shellfish Research*. — 2001. — Vol. 20. — № 1. — P. 107–109.
174. Peters, L. E. The allocreadioid problem with reference to the excretory system in four types of cercariae / L. E. Peters // *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. — 1961. — Vol. 28. — № 2. — P. 102–108.
175. Pina, S. Morphological and molecular studies on life cycle stages of *Diphtherostomum brusinae* (Digenea: Zoogonidae) from northern Portugal / S. Pina, J. Tajdari, F. Russell-Pinto, P. Rodrigues // *Journal of Helminthology*. — 2000. — Vol. 83. — № 4. — P. 321–331.
176. Poulin, R. Trematode life cycles: short is sweet? / R. Poulin, T. H. Cribb // *Trends in parasitology*. — 2002. — Vol. 18. — № 4. — P. 176–183.
177. Price, E. W. The trematode parasites of marine mammals / E. W. Price // *Proceedings of the United States National Museum*. — 1932. — Vol. 81. — P. 1–68.
178. Quinn, G. P. *Experimental design and data analysis for biologists* / G. P. Quinn, M. J. Keough. UK: Cambridge, Cambridge University Press. — 2002.
179. Raga, J. A. Parasites. In: *Encyclopedia of Marine Mammals* / J. A. Raga, M. Fernández, J. A. Balbuena, F. J. Aznar. London: Academic Press, Elsevier. — 2009. — P. 821–830.
180. Rees, F. G. Studies on the pigmented and unpigmented photoreceptors of the cercaria of *Cryptocotyle lingua* (Creplin) from *Littorina littorea* (L.) / F. G. Rees // *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*. — 1975. — Vol. 188. — № 1091. — P. 121–138.
181. Rekharani, Z. The cercaria and metacercaria of *Galactosomum ussuriense* Oshmarin, 1963 (Trematoda: Heterophyidae) / Z. Rekharani, R. Madhavi // *Journal of Helminthology*. — 1985. — Vol. 59. — № 4. — P. 295–300.
182. Rojas, J. R. Acanthocolpid metacercariae in the sea bass from Alejandro Selkirk Island, Chile / J. R. Rojas, P. Torres, G. Pequeño // *Journal of wildlife diseases*. — 1999. — Vol. 35. — № 1. — P. 90–93.
183. Ronald K. The metazoan parasites of the Heterosomata of the Gulf of St. Lawrence. VI. Digenea / K. Ronald // *Canadian Journal of Zoology*. — 1960. — Vol. 38. — № 5. — P. 923–937.
184. Ronquist, F. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space / F. Ronquist, M. Teslenko, P. Van Der Mark, D. L. Ayres, A. Darling, S. Höhna, B. Larget, L. Liu, M. A. Suchard, J. P. Huelsenbeck // *Systematic biology*. — 2012. — Vol. 61. — № 3. — P. 539–542.
185. Rothschild, M. The trematode parasites of *Turritella communis* Lmk. from Plymouth and Naples / M. Rothschild // *Parasitology*. — 1935. — Vol. 27. — № 2. — P. 152–170.

186. Rozario, T. A confocal microscopy-based atlas of tissue architecture in the tapeworm *Hymenolepis diminuta* / T. Rozario, P. A. Newmark // *Experimental parasitology*. — 2-15. — Vol. 158. — P. 31–41.
187. Salvador, V. Contribution to the taxonomy of the family Campulidae Odhner, 1926 (Digenea) by means of a morphometric multivariate analysis / V. Salvador, J. A. Balbuena, J. A. Raga // *Systematic Parasitology*. — 1996. — Vol. 33. — № 1. — P. 13–22.
188. Saville, D. H. Morphological comparison and identification of metacercariae in the ‘pygmaeus’ group of microphallids, parasites of seabirds in western palaeartic regions / D. H. Saville, K. V. Galaktionov, S. W. B. Irwin, I. I. Malkova // *Journal of Helminthology*. — 1997. — Vol. 71. — № 2. — P. 167–174.
189. Schindelin, J. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis / J. Schindelin, I. Arganda-Carreras, E. Frise, V. Kaynig, M. Longair, T. Pietzsch, S. Preibisch, S. Rueden, S. Saalfeld, B. Schmid, J. Y. Tinevez, D. J. White, V. Hartenstein, K. Eliceiri, P. Tomancak, A. Cardona // *Nature methods*. — 2012. — Vol. 9. — № 7. — P. 676–682.
190. Selbach, C. Some like it hotter: trematode transmission under changing temperature conditions / C. Selbach, R. Poulin // *Oecologia*. — 2020. — Vol. 194. — № 4. — P. 745–755.
191. Shimura, S. A new species of marine cercaria *Cercaria itoi* sp. nov. from the spindle shell *Fusinus perplexus* from Kanagawa Prefecture, Japan / S. Shimura // *Fish Pathology*. — 1984. — Vol. 18. — № 4. — P. 179–183.
192. Shiozaki, A. Revision of the taxonomic status of *Synthesium elongatum* (Ozaki, 1935) (Brachycladiidae), an intestinal digenean of narrow-ridged finless porpoise (*Neophocaena asiaorientalis*) / A. Shiozaki, M. Amano, M. Fernández, N. Fraija-Fernández // *Journal of Veterinary Medical Science*. — 2019. — Vol. 81. — № 4. — P. 601–607.
193. Silveira, T. Prey species of franciscana *Pontoporia blainvillei* as paratenic hosts of helminths / T. Silveira, M. H. Remião, R. B. Robaldo, K. Freitas, A. L. S. Valente // *Diseases of Aquatic Organisms*. — 2017. — Vol. 123. — № 3. — P. 251–256.
194. Smirnov, P. A. Miracidium of *Steringophorus furciger* (Digenea: Fellodistomidae) and other passive Bucephalata larvae / P. A. Smirnov, A. Gonchar // *Zoomorphology*. — 2023. — Vol. 142. — № 1. — P. 1–11.
195. Sommerville, C. A comparative study of the tissue response to invasion and encystment by *Stephanochasmus baccatus* (Nicoll, 1907) (Digenea: Acanthocolpidae) in four species of flatfish / C. Sommerville // *Journal of Fish Diseases*. — 1981. — Vol. 4. — № 1. — P. 53–68.
196. Stafford, J. Trematodes from Canadian fishes / J. Stafford // *Zoologischer Anzeiger*. — 1904. — Vol. 27. — P. 481–495.

197. Stamatakis, A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies / A. Stamatakis // *Bioinformatics*. — 2014. — Vol. 30. — № 9 — P. 1312–1313.
198. Stunkard, H. W. *Cercaria dipterocerca* Miller and Northup, 1926 and *Stephanostomum dentatum* (Linton, 1900) Manter, 1931 / H. W. Stunkard // *The Biological Bulletin*. — 1961. — Vol. 120. — № 2. — P. 221–237.
199. Stunkard, H. W. The morphology of *Zalophotrema hepaticum*, with a review of the trematode family Fasciolidae / H. W. Stunkard, C. H. Alvey // *Parasitology*. — 1930. — Vol. 22. — № 3. — P. 326–333.
200. Sugumaran, M. Comparative biochemistry of eumelanogenesis and the protective roles of phenoloxidase and melanin in insects / M. Sugumaran // *Pigment cell research*. — 2002. — Vol. 15. — № 1. — P. 2–9.
201. Suleman. Molecular phylogenetics and mitogenomics of three avian dicrocoeliids (Digenea: Dicrocoeliidae) and comparison with mammalian dicrocoeliids / Suleman, M. S. Khan, V. V. Tkach, N. Muhammad, D. Zhang, X. Q. Zhu, J. Ma // *Parasites & Vectors*. — 2020. — Vol. 13. — P. 1–12.
202. Suleman. Mitochondrial genomes of two eucotylids as the first representatives from the superfamily Microphalloidea (Trematoda) and phylogenetic implications / Suleman, N. Muhammad, M. S. Khan, V. V. Tkach, H. Ullah, M. Ehsan, J. Ma, X. Q. Zhu // *Parasites & Vectors*. — 2021. — Vol. 14. — P. 1–14.
203. Svetocheva, O. N. Analysis of seasonality in trophic relationships of true seals (Phocidae) in the White Sea / O. N. Svetocheva, V. N. Svetochev // *Czech Polar Reports*. — 2015. — Vol. 5. — № 2. — P. 230–240.
204. Tamura, K. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11 / K. Tamura, G. Stecher, S. Kumar // *Molecular biology and evolution*. — 2021. — Vol. 38. — № 7. — P. 3022–3027.
205. Tatonova, Y. V. *Stephanoprora amurensis* sp. nov., *Echinochasmus milvi* Yamaguti, 1939 and *E. suifunensis* Besprozvannykh, 1991 from the Russian southern Far East and their phylogenetic relationships within the Echinochasmidae Odhner 1910 / Y. V. Tatonova, A. V. Izrailskaia, V. V. Besprozvannykh // *Parasitology*. — 2020. — Vol. 147. — № 13. — P. 1469–1479.
206. Tétréault, F. Impact of a castrating trematode, *Neophasis* sp., on the common whelk, *Buccinum undatum*, in the Northern Gulf of St. Lawrence / F. Tétréault, J. H. Himmelman, L. Measures // *The Biological Bulletin*. — 2000. — Vol. 198. — № 2. — P. 261–271.
207. Tkach, V. Molecular and morphological evidence for close phylogenetic affinities of the genera *Macrodera*, *Leptophallus*, *Metaleptophallus* and *Paralepoderma* [Digenea, Plagiorchiata] / V.

Tkach, B. Grabda-Kazubska, J. Pawlowski, Z. Swiderski // *Acta Parasitologica*. — 1999. — Vol. 44. — № 3. — P. 170–179.

208. Tolstenkov, O. O. The neuro-muscular system in cercaria with different patterns of locomotion / O. O. Tolstenkov, V. V. Prokofiev, N. B. Terenina, M. K. Gustafsson // *Parasitology research*. — 2011. — Vol. 108. — P. 1219–1227.

209. Tolstenkov, O. O. The spatial relationship between the musculature and the 5-HT and FMRFamide immunoreactivities in cercaria, metacercaria and adult *Opisthorchis felineus* (Digenea) / O. O. Tolstenkov, N. B. Terenina, E. A. Serbina, M. K. Gustafsson // *Acta Parasitologica*. — 2010. — Vol. 55. — № 2. — P. 123–132.

210. Truong V. T. Marine fish parasites of Vietnam: a comprehensive review and updated list of species, hosts, and zoogeographical distribution / V. T. Truong, H. T. T. Ngo, T. Q. Bui, H. W. Palm, R. A. Bray // *Parasite*. — 2022. — Vol. 29. — P. 1–36.

211. Tsuchida, K. First report of post-cyclic transmission in trematodes: *Derogenes lacustris* (Digenea: Hemiuroidea) in Patagonian freshwater fishes / K. Tsuchida, C. Rauque, G. Viozzi, V. Flores, M. Urabe // *Parasitology*. — 2022. — Vol. 149. — № 2. — P. 234–238.

212. Valentinsson, D. Appraisal of the potential for a future fishery on whelks (*Buccinum undatum*) in Swedish waters: CPUE and biological aspects / D. Valentinsson, F. Sjödin, P. R. Jonsson, P. Nilsson, C. Wheatley // *Fisheries research*. — 1999. — Vol. 42. — № 3. — P. 215–227.

213. Vidal-Martínez, V. M. Digenean metacercariae of fishes from the lagoon flats of Palmyra Atoll, Eastern Indo-Pacific / V. M. Vidal-Martínez, M. L. Aguirre-Macedo, J. P. McLaughlin, R. F. Hechinger, A. G. Jaramillo, J. C. Shaw, A. K. James, A. M. Kuris, K. D. Lafferty // *Journal of Helminthology*. — 2012. — Vol. 86. — № 4. — P. 493–509.

214. Team RC. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria [Электронный ресурс]. — 2016. — Режим доступа: <http://www.r-project.org/index.html>.

215. Wee, N. Q. Gastropod first intermediate hosts for two species of Monorchidae Odhner, 1911 (Trematoda): I can't believe it's not bivalves! / N. Q. Wee, T. H. Cribb, R. D. Corner, S. Ward, S. C. Cutmore // *International Journal for Parasitology*. — 2021. — Vol. 41. — № 12. — P. 1035–1046.

216. Werding, B. Morphologie, entwicklung und ökologie digener trematoden-larven der strandschnecke *Littorina littorea* / B. Werding // *Marine biology*. — 1969. — Vol. 3. — № 4. — P. 306–333.

217. Wolfgang, R. W. Studies of the trematode *Stephanostomum baccatum* (Nicoll, 1907): III. Its life cycle / R. W. Wolfgang // *Canadian Journal of Zoology*. — 1955. — Vol. 33. — № 3. — P. 113–128.

218. Woodard, J. C. Some parasitic diseases of dolphins / J. C. Woodard, S. G. Zam, D. K. Caldwell, M. C. Caldwell // *Pathologia veterinaria*. — 1969. — Vol. 6. — № 3. — P. 257–272.
219. WoRMS. *Acanthocolpidae* Lühe, 1906 [Электронный ресурс]. — 2023а. — Режим доступа: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=108433> on 2023-12-16.
220. WoRMS. *Brachycladiidae* Odhner, 1905 [Электронный ресурс]. — 2023б. — Режим доступа: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=108549> on 2023-12-19.
221. WoRMS. *Neophasis* Stafford, 1904 [Электронный ресурс]. — 2023в. — Режим доступа: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=108549> on 2023-12-19.
222. Yamaguti, S. Studies on the helminth fauna of Japan. Part 2. Trematodes of fishes / S. Yamaguti // *Japanese Journal of Zoology*. — 1934. — Vol. 5. — №3. — P. 249–541.
223. Yamaguti, S. Studies on the helminth fauna of Japan. Part 20. Larval trematodes from marine fishes / S. Yamaguti // *Japanese Journal of Zoology*. — 1936. — Vol. 7. — № 3. — P. 491–499.
224. Yamaguti S. Part I. The digenetic trematodes of vertebrates. In: *Systema Helminthum*, Vol. 1 / S. Yamaguti. New York: Interscience Publishers Inc. — 1958. — 979 p.
225. Zheng, L. Molluscicides against the snail-intermediate host of *Schistosoma*: a review / L. Zheng, L. Deng, Y. Zhong, Y. Wang, W. Guo, X. Fan // *Parasitology research*. — 2021. — Vol. 120. — P. 3355–3393.

## Приложение. Таблицы

**Таблица 1.** Значения эволюционной дивергенции между последовательностями *nad3* мтДНК Acanthocolpidae, Brachycladiidae и *Paragonimus westermani* (внешняя группа). Число нуклеотидных замен на сайт приведено под диагональю, над ней указаны значения стандартной ошибки.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
1. KT180219 <i>Tormopsolus orientalis</i>		0.058	0.058	0.041	0.041	0.039	0.065	0.054	0.057	0.056	0.054	0.058	0.054	0.054	0.054	0.051	0.050	0.049	0.049	0.054	0.052	0.052	0.060	0.056	0.060	0.058	0.078
2. MG642801 <i>Cercaria capricornia</i> I (группа 1)	0.356		0.000	0.044	0.044	0.046	0.067	0.068	0.054	0.053	0.052	0.053	0.057	0.057	0.050	0.047	0.047	0.048	0.048	0.052	0.057	0.058	0.065	0.061	0.061	0.060	0.075
3. MG642800 <i>Cercaria capricornia</i> II (группа 1)	0.356	0.000		0.044	0.044	0.046	0.067	0.068	0.054	0.053	0.052	0.053	0.057	0.057	0.050	0.047	0.047	0.048	0.048	0.052	0.057	0.058	0.065	0.061	0.061	0.060	0.075
4. MG642804 <i>Cercaria capricornia</i> III (группа 2)	0.249	0.272	0.272		0.000	0.008	0.059	0.055	0.049	0.049	0.045	0.050	0.045	0.046	0.050	0.047	0.046	0.048	0.048	0.044	0.048	0.052	0.057	0.048	0.049	0.048	0.080
5. MG642803 <i>Cercaria capricornia</i> IV (группа 2)	0.249	0.272	0.272	0.000		0.008	0.059	0.055	0.049	0.049	0.045	0.050	0.045	0.046	0.050	0.047	0.046	0.048	0.048	0.044	0.048	0.052	0.057	0.048	0.049	0.048	0.080
6. MG642805 <i>Cercaria capricornia</i> V (группа 2)	0.235	0.286	0.286	0.020	0.020		0.060	0.057	0.048	0.048	0.046	0.049	0.046	0.047	0.049	0.048	0.047	0.048	0.048	0.043	0.048	0.051	0.057	0.048	0.051	0.049	0.081
7. MG642809 <i>Cercaria capricornia</i> VII	0.377	0.392	0.392	0.344	0.344	0.344		0.041	0.054	0.054	0.056	0.055	0.059	0.058	0.058	0.054	0.054	0.056	0.056	0.055	0.054	0.058	0.064	0.057	0.061	0.057	0.102
8. MG642807 <i>Cercaria capricornia</i> VIII	0.330	0.398	0.398	0.310	0.310	0.326	0.238		0.056	0.056	0.056	0.057	0.057	0.057	0.058	0.055	0.054	0.061	0.061	0.055	0.050	0.055	0.060	0.057	0.057	0.060	0.078
<b>9. MT153588 <i>Orthosplanchnus arcticus</i> (редия)</b>	0.344	0.344	0.344	0.287	0.287	0.277	0.320	0.334		<b>0.006</b>	<b>0.025</b>	<b>0.007</b>	0.031	0.033	0.029	0.028	0.027	0.029	0.029	0.028	0.036	0.036	0.040	0.038	0.041	0.036	0.064
<b>10. MT153587 <i>Orthosplanchnus arcticus</i> (метацеркария)</b>	0.339	0.334	0.334	0.287	0.287	0.277	0.320	0.334	<b>0.010</b>		<b>0.025</b>	<b>0.005</b>	0.032	0.032	0.029	0.027	0.027	0.029	0.029	0.027	0.034	0.035	0.039	0.038	0.041	0.036	0.064
<b>11. MT153589 Brachycladiidae gen. sp. 1 WS (редия)</b>	0.339	0.325	0.325	0.267	0.267	0.277	0.337	0.337	<b>0.143</b>	<b>0.140</b>		<b>0.026</b>	0.032	0.033	0.029	0.031	0.031	0.035	0.035	0.033	0.040	0.041	0.046	0.046	0.039	0.039	0.071
<b>12. MG763084 <i>Orthosplanchnus arcticus</i> (марита)</b>	0.349	0.334	0.334	0.297	0.297	0.287	0.331	0.345	<b>0.013</b>	<b>0.010</b>	<b>0.152</b>		0.033	0.034	0.029	0.029	0.028	0.030	0.030	0.029	0.036	0.036	0.040	0.039	0.042	0.037	0.063
13. AF034555 <i>Orthosplanchnus fraterculus</i>	0.355	0.357	0.357	0.272	0.272	0.277	0.351	0.336	0.182	0.186	0.189	0.199		0.006	0.025	0.032	0.031	0.030	0.030	0.020	0.035	0.036	0.042	0.044	0.037	0.036	0.074
14. KT180215 <i>Oschmarinella rochebruni</i>	0.350	0.357	0.357	0.276	0.276	0.282	0.340	0.336	0.194	0.190	0.193	0.203	0.010		0.025	0.031	0.030	0.029	0.029	0.021	0.036	0.038	0.041	0.044	0.037	0.036	0.075
15. LC326064 <i>Oschmarinella macrorchis</i>	0.336	0.310	0.310	0.303	0.303	0.299	0.337	0.346	0.173	0.177	0.177	0.181	0.137	0.133		0.027	0.027	0.027	0.027	0.020	0.038	0.040	0.043	0.041	0.035	0.034	0.062
16. KT180217 <i>Brachycladium atlanticum</i>	0.319	0.292	0.292	0.274	0.274	0.284	0.314	0.314	0.153	0.149	0.174	0.162	0.171	0.167	0.151		0.003	0.022	0.022	0.025	0.032	0.034	0.039	0.036	0.039	0.036	0.066
17. AF034551 <i>Brachycladium atlanticum</i>	0.313	0.286	0.286	0.268	0.268	0.278	0.308	0.308	0.149	0.145	0.169	0.157	0.166	0.162	0.147	0.003		0.021	0.021	0.025	0.032	0.033	0.038	0.035	0.038	0.036	0.065
18. NC029757 <i>Brachycladium goliath</i>	0.300	0.297	0.297	0.279	0.279	0.284	0.320	0.347	0.165	0.161	0.213	0.173	0.172	0.168	0.157	0.115	0.111		0.000	0.024	0.038	0.039	0.039	0.038	0.038	0.032	0.065
19. AF123439 <i>Brachycladium goliath</i>	0.300	0.297	0.297	0.279	0.279	0.284	0.320	0.347	0.165	0.161	0.213	0.173	0.172	0.168	0.157	0.115	0.111	0.000		0.024	0.038	0.039	0.039	0.038	0.038	0.032	0.065
20. KT180214 <i>Campula oblonga</i>	0.344	0.324	0.324	0.267	0.267	0.263	0.318	0.319	0.161	0.157	0.203	0.170	0.102	0.106	0.094	0.136	0.131	0.138	0.138		0.033	0.034	0.040	0.040	0.036	0.034	0.064
21. KY612256 <i>Synthesium neotropicalis</i>	0.323	0.363	0.363	0.297	0.297	0.287	0.307	0.291	0.220	0.207	0.245	0.215	0.218	0.223	0.236	0.192	0.187	0.230	0.230	0.195		0.013	0.029	0.025	0.041	0.040	0.073
22. JX644107 <i>Synthesium pontoporiae</i>	0.322	0.378	0.378	0.322	0.322	0.312	0.338	0.322	0.215	0.211	0.254	0.220	0.231	0.244	0.249	0.204	0.199	0.243	0.243	0.207	0.047		0.029	0.028	0.045	0.042	0.072
23. MH634347 <i>Synthesium tursionis</i>	0.367	0.414	0.414	0.351	0.351	0.351	0.363	0.355	0.246	0.242	0.291	0.251	0.267	0.262	0.265	0.234	0.229	0.234	0.234	0.250	0.169	0.169		0.023	0.050	0.045	0.090
24. AF034552 <i>Synthesium tursionis</i>	0.337	0.377	0.377	0.290	0.290	0.290	0.325	0.332	0.216	0.217	0.275	0.226	0.265	0.265	0.250	0.203	0.198	0.221	0.221	0.239	0.130	0.166	0.119		0.045	0.042	0.082
25. AF034557 <i>Nasitrema globicephalae</i>	0.382	0.397	0.397	0.294	0.294	0.309	0.358	0.344	0.261	0.261	0.240	0.270	0.228	0.227	0.213	0.241	0.236	0.237	0.237	0.224	0.266	0.298	0.326	0.284		0.020	0.079
26. KT180216 <i>Nasitrema delphini</i>	0.365	0.387	0.387	0.288	0.288	0.293	0.327	0.361	0.224	0.224	0.240	0.233	0.223	0.223	0.209	0.219	0.213	0.198	0.198	0.211	0.257	0.270	0.288	0.259	0.098		0.073
27. CM017921 <i>Paragonimus westermani</i>	0.470	0.429	0.429	0.458	0.458	0.465	0.527	0.439	0.384	0.379	0.420	0.374	0.441	0.447	0.375	0.389	0.382	0.374	0.374	0.379	0.421	0.421	0.512	0.458	0.460	0.436	

Таблица 2. Список видов и сиквенсов, использованных для построения молекулярно-филогенетических деревьев.

Вид	Хозяин	Стадия	Номер доступа в базе GenBank и ссылка на работу		
			18S рДНК	28S рДНК	mtДНК
<b>Brachycladiidae</b>					
<i>Orthosplanchmus arcticus</i> Odhner, 1905	<i>Cryptonatica affinis</i> (Gastropoda: Naticidae)	Редия	-	-	MT153588 Наша работа
<i>Orthosplanchmus arcticus</i> Odhner, 1905	<i>Serripes groenlandicus</i> (Bivalvia: Cardiidae)	Метацеркария	MT184800 Наша работа	MT153593 Наша работа	MT153587 Наша работа
Brachycladiidae gen. sp. 1 WS	<i>Cryptonatica affinis</i> (Gastropoda: Naticidae)	Редия	MT184799 Наша работа	MT153594 Наша работа	MT153589 Наша работа
<i>Orthosplanchmus arcticus</i> Odhner, 1905	<i>Pusa hispida</i> (Mammalia: Phocidae)	Марита	-	-	MG763084 Andersen-Ranberg et al., 2018
<i>Orthosplanchmus fraterculus</i> Odhner, 1905	<i>Enhydra lutris</i> (Mammalia: Mustelidae)	Марита	-	-	AF034555 Fernández et al., 1998b
<i>Oschmarinella macrorchis</i> Demaree, Critchfield & Tinling, 1997	<i>Mesoplodon carlhubbs</i> (Mammalia: Ziphiidae)	Марита	LC269094 Nakagun et al., 2018	LC269095 Nakagun et al., 2018	LC326064 Nakagun et al., 2018
<i>Oschmarinella rochebruni</i> (Poirier, 1886) Gibson & Bray, 1997	<i>Stenella coeruleoalba</i> (Mammalia: Delphinidae)	Марита	KM258667 Fraija-Fernández et al., 2015	KM258673 Fraija-Fernández et al., 2015	KT180215 Fraija-Fernández et al., 2016
<i>Campula oblonga</i> Cobbold, 1858	<i>Phocoena phocoena</i> (Mammalia: Phocoenidae)	Марита	KM258665 Fraija-Fernández et al., 2015	KM258671 Fraija-Fernández et al., 2015	KT180214 Fraija-Fernández et al., 2016
<i>Brachycladium atlanticum</i> (Abril, Balbuena & Raga, 1991) Gibson, 2005	<i>Stenella coeruleoalba</i> (Mammalia: Delphinidae)	Марита	-	-	KT180217 Fraija-Fernández et al., 2016
<i>Brachycladium atlanticum</i>	<i>Stenella coeruleoalba</i> (Mammalia: Delphinidae)	Марита	-	-	AF034551 Fernández et al., 1998b
<i>Zalophotrema hepaticum</i> Stunkard & Alvey, 1929	<i>Zalophus californianus</i> (Mammalia: Otariidae)	Марита	AJ224884 Fernández et al., 1998	AY222255 Olson et al., 2003	-
<i>Brachycladium goliath</i> (van Beneden, 1858) Fraija-Fernández, Aznar, Raga, Gibson & Fernández, 2014	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (Mammalia, Balaenopteridae)	Марита	KR703279 Briscoe et al., 2016	KR703279 Briscoe et al., 2016	NC029757 Fraija-Fernández et al., 2016
<i>Brachycladium goliath</i>	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (Mammalia, Balaenopteridae)	Марита	-	-	AF123439 Fernández et al., 2000
<i>Synthesium neotropicalis</i> Ebert, Müller, Marigo, Valente, Cremer & da Silva, 2017	<i>Tursiops truncatus</i> (Mammalia: Delphinidae)	Марита	-	-	KY612256 Ebert et al., 2017
<i>Synthesium pontoporiae</i> (Raga, Aznar, Balbuena & Dailey, 1994) Marigo, Vicente, Valente, Measures & Santos, 2008	<i>Pontoporia blainvillei</i> (Mammalia: Pontoporiidae)	Марита	-	-	JX644107 Marigo et al., 2015
<i>Synthesium tursionis</i> (Marchi, 1873) Stunkard & Alvey, 1930	<i>Tursiops truncatus</i> (Mammalia: Delphinidae)	Марита	-	-	AF034552 Fernández et al., 1998b
<i>Synthesium tursionis</i>	<i>Neophocaena asiaorientalis</i> (Mammalia: Phocoenidae)	Марита	-	-	MH634347 Shiozaki et al., 2019



## Продолжение Таблицы 2

<i>Nasitrema globicephalae</i> Neiland, Rice & Holden, 1970	<i>Globicephala melas</i> (Mammalia: Delphinidae)	Марита	-	-	AF034557 Fernández et al., 1998b
<i>Nasitrema delphini</i> Neiland, Rice & Holden, 1970	<i>Delphinus delphis</i> (Mammalia: Delphinidae)	Марита	-	-	KT180216 Fraija-Fernández et al., 2016
<i>Nasitrema</i> sp.	<i>Feresa attenuata</i> (Mammalia: Delphinidae)	Марита	KM258666 Fraija-Fernández et al., 2015	KM258672 Fraija-Fernández et al., 2015	-
<b>Acanthocolpidae</b>					
<i>Neophasis oculata</i> (Levinsen, 1881) Miller, 1941	<i>Anarhichas lupus</i> (Actinopterygii: Anarhichadidae)	Марита	MW730771 Наша работа	MW730774 Наша работа	-
<i>Neophasis anarrhichae</i> (Nicoll, 1909) Bray, 1987	<i>Myoxocephalus scorpius</i> (Actinopterygii: Cottidae)	Марита	MW730772 Наша работа	MW730785 Наша работа	-
<i>Tormopsolus orientalis</i> Yamaguti, 1934	<i>Seriola dumerili</i> (Actinopterygii: Carangidae)	Марита	DQ248204 Bray et al., 2005	DQ248217 Bray et al., 2005	KT180219 Fraija-Fernández et al., 2016
<i>Cercaria capricornia</i> I Barnett, Smales and Cribb, 2008 (группа 1)	<i>Nassarius olivaceus</i> (Gastropoda: Nassariidae)	Церкария	-	MG642791 Barnett, Miller, 2018	MG642801 Barnett, Miller, 2018
<i>Cercaria capricornia</i> II Barnett, Smales and Cribb, 2008 (группа 1)	<i>Nassarius olivaceus</i> (Gastropoda: Nassariidae)	Церкария	-	MG642800 Barnett, Miller, 2018	-
<i>Cercaria capricornia</i> III Barnett, Smales and Cribb, 2008 (группа 2)	<i>Nassarius olivaceus</i> (Gastropoda: Nassariidae)	Церкария	-	MG642794 Barnett, Miller, 2018	MG642804 Barnett, Miller, 2018
<i>Cercaria capricornia</i> IV Barnett, Smales and Cribb, 2008 (группа 2)	<i>Nassarius olivaceus</i> (Gastropoda: Nassariidae)	Церкария	-	MG642803 Barnett, Miller, 2018	-
<i>Cercaria capricornia</i> V Barnett, Smales and Cribb, 2008 (группа 2)	<i>Nassarius dorsatus</i> (Gastropoda: Nassariidae)	Церкария	-	MG642805 Barnett, Miller, 2018	-
<i>Cercaria capricornia</i> VI Barnett, Smales and Cribb, 2008 (группа 3)	<i>Nassarius dorsatus</i> (Gastropoda: Nassariidae)	Церкария	-	MG642798 Barnett, Miller, 2018	-
<i>Pleorchis uku</i> Yamaguti, 1970	<i>Aprion virescens</i> (Actinopterygii: Lutjanidae)	Марита	DQ248203 Bray et al., 2005	DQ248216 Bray et al., 2005	-
<i>Pleorchis polyorchis</i> (Stossich, 1889) Stiles, 1896	<i>Sciaena umbra</i> (Actinopterygii: Sciaenidae)		DQ248202 Bray et al., 2005	DQ248215 Bray et al., 2005	-
<i>Cercaria capricornia</i> VII Barnett, Miller & Cribb, 2010	<i>Nassarius dorsatus</i> (Gastropoda: Nassariidae)	Церкария	-	FJ809037 Barnett et al., 2010	MG642809 Barnett, Miller, 2018
<i>Cercaria capricornia</i> VIII Barnett, Miller & Cribb, 2010	<i>Nassarius dorsatus</i> (Gastropoda: Nassariidae)	Церкария	-	FJ809036 Barnett et al., 2010	MG642807 Barnett, Miller, 2018
<i>Stephanostomum baccatum</i> (Nicoll, 1907) Manter, 1934	<i>Eutrigla gurnardus</i> (Actinopterygii: Triglidae)	Марита	AJ287577 Cribb et al., 2001	AY222256 Bray et al., 2005	-
<i>Stephanostomum</i> cf. <i>uku</i> Yamaguti, 1970	<i>Aprion virescens</i> (Actinopterygii: Lutjanidae)	Марита	DQ248206 Bray et al., 2005	DQ248219 Bray et al., 2005	-
<i>Stephanostomum tantabiddii</i> Bray & Cribb, 2004	<i>Carangoides fulvoguttatus</i> (Actinopterygii: Carangidae)	Марита	DQ248207 Bray et al., 2005	DQ248220 Bray et al., 2005	-

## Продолжение Таблицы 2

<i>Stephanostomum gaidropsari</i> Bartoli & Cribb, 2001	<i>Gaidropsarus mediterraneus</i> (Actinopterygii: Lotidae)	Марита	DQ248208 Bray et al., 2005	DQ248221 Bray et al., 2005	-
<i>Stephanostomum pristis</i> (Deslongchamps, 1824) Looss, 1899	<i>Phycis phyci</i> (Actinopterygii: Phycidae)	Марита	DQ248209 Bray et al., 2005	DQ248222 Bray et al., 2005	-
<i>Stephanostomum cf. cesticillum</i> (Molin, 1858) Looss, 1899	<i>Zeus faber</i> (Actinopterygii: Zeidae)	Марита	DQ248214 Bray et al., 2005	DQ248227 Bray et al., 2005	-
<i>Stephanostomum minutum</i> (Looss, 1901) Manter, 1940	<i>Uranoscopus scaber</i> (Actinopterygii: Uranoscopidae)	Марита	DQ248211 Bray et al., 2005	DQ248224 Bray et al., 2005	-
<i>Stephanostomum bicoronatum</i> (Stossich, 1883) Fuhrmann, 1928	<i>Sciaena umbra</i> (Actinopterygii: Sciaenidae)	Марита	DQ248212 Bray et al., 2005	DQ248225 Bray et al., 2005	-
<i>Pseudolepidapedon balistis</i> Manter, 1940	<i>Balistes capriscus</i> (Actinopterygii: Balistidae)	Марита	-	KJ820760 Curran, Pulis, 2014	-
<i>Monostephanostomum nolani</i> Bray & Cribb, 2007	<i>Carangoides plagiotaenia</i> (Actinopterygii: Carangidae)	Марита	EF506762 Bray et al., 2007	EF506763 Bray et al., 2007	-
<b>Paragonimidae (внешняя группа)</b>					-
<i>Paragonimus westermani</i> (Kerbert, 1878)	<i>Canis familiaris</i> (Mammalia: Canidae)	Марита	AJ287556 Cribb et al., 2001	AY116874 Olson et al., 2003	CM017921 Oey et al., 2019
<i>Paragonimus iloktsuensis</i> Chen, 1940	<i>Rattus norvegicus</i> (Mammalia: Muridae)	Марита	AY222141 Olson et al., 2003	AY116875 Olson et al., 2003	-