

ISSN 0031-1847

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

ПАРАЗИТОЛОГИЯ

ТОМ 57

2023

ВЫПУСК 1



СОДЕРЖАНИЕ

Том 57, № 1, 2023

Иксодовые клещи и переносимые ими инфекции в Карелии: анализ клещей, поступивших от населения в республиканский Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Карелия (г. Петрозаводск)	3
<i>С. В. Бугмырин, Т. Б. Поутонен, Т. Н. Пахомова, Л. А. Беспятова, В. Е. Чевская, Н. А. Кочерова</i>	
Ультроструктурные особенности кожно-мышечного мешка гельминта <i>Heterakis dispar</i> (Schrank, 1790) (Nematoda, Heterakidae)	20
<i>Ф. Г. Рзаев</i>	
Молекулярная характеристика <i>Echinococcus canadensis</i> (Cestoda, Taenidae) от волка из Кировской области	38
<i>О. А. Логинова, С. Э. Спиридонов, О. В. Масленникова, Л. А. Букина</i>	
Об организации ядер в тегументе некоторых скребней классов Palaeacanthocephala и Archiacanthocephala	44
<i>В. П. Никишин, Д. В. Пономарёв</i>	
Фауна эндобийонтных инфузорий рубца олений <i>Cervus elaphus</i> Linnaeus, 1758	52
<i>О. А. Корнилова, А. В. Радаев, И. В. Серёдкин, Л. В. Чистякова</i>	
Акарицидное влияние вторичных метаболитов симбиотических бактерий <i>Xenorhabdus bovienii</i> и <i>X. nematophila</i> энтомопатогенных нематод на паутиного клеща <i>Tetranychus urticae</i> (Trombidiformes, Tetranychidae)	64
<i>Л. Г. Данилов, Г. П. Иванова, В. Г. Каплин, Е. А. Варфоломеева</i>	
IV Международный паразитологический симпозиум «Современные проблемы общей и частной паразитологии» (Санкт-Петербург, 7–9 декабря 2022 г.)	77
<i>С. А. Леонович</i>	
Потери науки. Дубинина Елена Всеволодовна (12.06.1937–27.12.2022)	84
<i>С. В. Миронов, С. Г. Медведев</i>	
Потери науки. Митенев Валентин Кельсиевич (некролог)	86
<i>Редколлегия журнала «Паразитология», МОО «Паразитологическое общество», коллектив Полярного филиала ФГБНУ «ВНИРО» (ФГБНУ «ПИИРО» им. Н.М. Книповича)</i>	

CONTENTS

Vol. 57, No. 1, 2023

Ticks and tick-borne infections in Karelia: analysis of ticks brought by citizens to be tested at the Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Karelia (Petrozavodsk)	3
<i>S. V. Bugmyrin, T. B. Poutonen, T. N. Pakhomova, L. A. Bespyatova, V. E. Chevskaya, N. A. Kocherova</i>	
Ultrastructural features of the body wall of the helminth <i>Heterakis dispar</i> (Schränk, 1790) (Nematoda, Heterakidae)	20
<i>F. H. Rzyayev</i>	
Molecular characterization of <i>Echinococcus canadensis</i> (Cestoda, Taeniidae) in wolf from the Kirov region	38
<i>O. A. Loginova, S. E. Spiridonov, O. V. Maslennikova, L. A. Bukina</i>	
On the organization of the nuclei in the tegument of some Palaeacanthocephala and Archiacanthocephala	44
<i>V. P. Nikishin, D. V. Ponomarev</i>	
Fauna of the endobiotic ciliates from the rumen of the red deer <i>Cervus elaphus</i> Linnaeus, 1758	52
<i>O. A. Kornilova, A. V. Radaev, I. V. Seryodkin, L. V. Chistyakova</i>	
Acaricidal effect of secondary metabolites from symbiotic bacteria <i>Xenorhabdus bovienii</i> and <i>X. nematophila</i> of entomopathogenic nematodes on spider mite <i>Tetranychus urticae</i> (Trombidiformes, Tetranychidae)	64
<i>L. G. Danilov, G. P. Ivanova, V. G. Kaplin, E. A. Varfolomeeva</i>	
IV International parasitological symposium “Modern problems of general and private parasitology” (St. Petersburg, December 7–9, 2022)	77
<i>S. A. Leonovich</i>	
In Memoriam. Dubinina Elena Vsevolodovna (12.06.1937–27.12.2022)	84
<i>S. V. Mironov, S. G. Medvedev</i>	
In Memoriam. Mitenev Valentin Kel’sievich (03.05.1929–23.11.2022)	86
<i>Editorial Board of “Parazitologia”, Society of Parasitologists belongs to the Russian Academy of Sciences, Staff of the Polar branch of the FSBSI “VNIRO” (PINRO named after N.M. Knipovich)</i>	

УДК 595.421(470.22)

ИКСОДОВЫЕ КЛЕЩИ И ПЕРЕНОСИМЫЕ ИМИ ИНФЕКЦИИ В КАРЕЛИИ: АНАЛИЗ КЛЕЩЕЙ, ПОСТУПИВШИХ ОТ НАСЕЛЕНИЯ В ЦЕНТР ГИГИЕНЫ И ЭПИДЕМИОЛОГИИ В РЕСПУБЛИКЕ КАРЕЛИЯ (Г. ПЕТРОЗАВОДСК)

© 2023 г. С. В. Бугмырин^{а,*}, Т. Б. Поутонен^б, Т. Н. Пахомова^б,
Л. А. Беспятова^а, В. Е. Чевская^б, Н. А. Кочерова^а

^а Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН»,
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, 185910 Россия

^б ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Карелия»,
ул. Пирогова, 12, Петрозаводск, 185002 Россия

* e-mail: sbugmyr@mail.ru

Поступила в редакцию 19.12.2022 г.

После доработки 20.01.2023 г.

Принята к публикации 22.01.2023 г.

На базе Центра гигиены и эпидемиологии (ЦГЭ) в Республике Карелия (г. Петрозаводск) в 2019 и 2021 годах проводили исследования по изучению видового состава клещей, поступивших от населения. В результате работы определено около 2.5 тыс. особей, относящихся к шести видам семейства Ixodidae: *Ixodes persulcatus* Schulze, 1930, *I. ricinus* (Linnaeus, 1758), *Dermacentor marginatus* (Sulzer, 1776), *D. reticulatus* Fabricius, 1794, *Hyalomma marginatum* Koch, 1844 и *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). Часть клещей (2%), в т.ч. и все не обитающие в Карелии виды, поступила в ЦГЭ из других регионов. Из Карелии были определены два вида: *I. persulcatus* (около 95% от общего числа клещей) и *I. ricinus*. Определение возбудителей инфекций проводили методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией набором реагентов «АмплиСенс® TBEV, B. burgdorferi sl, A. phagocytophilum, E. chaffeensis/E. muris – FL». Встречаемость вируса клещевого энцефалита в *I. persulcatus* составила 1.5%. В *I. ricinus* вирус не выявлен. Зараженность боррелиями комплекса *Borrelia burgdorferi* s. l. и *Ehrlichia* sp. у *I. persulcatus* составила 32.5 и 3.3%, у *I. ricinus* 16.3 и 0.8%, соответственно. Единичный случай обнаружения *Anaplasma phagocytophilum* был отмечен у *I. persulcatus* (зараженность 0.04%). В целом, эпидемиологическая ситуация в Карелии определяется широким распространением и высокой численностью *I. persulcatus*.

Ключевые слова: *Ixodes ricinus*, *I. persulcatus*, возбудители инфекций, вирус клещевого энцефалита, *Borrelia burgdorferi* s. l., Карелия, сезон активности

DOI: 10.31857/S0031184723010015; EDN: FJALBP

Иксодовые клещи (Acarina, Ixodidae) составляют группу высокоспециализированных временных эктопаразитов с длительным питанием (Балашов, 1982). Изучению этих эктопаразитов уделяется особое внимание, что связано с их участием в передаче многих опасных для человека и животных возбудителей трансмиссивных инфекций (Коренберг и др., 2013). На сегодняшний день в мировой фауне описано 729 видов клещей сем. Ixodidae C.L. Koch, 1844 (Guglielmone, Robbins, 2018), из которых на территории Карелии обитает шесть: *Ixodes persulcatus* Schulze, 1930, *I. ricinus* (Linnaeus, 1758), *I. trianguliceps* Birula, 1895, *I. apronophorus* Schulze, 1924, *I. lividus* Koch, 1844 и *I. uriae* White, 1852 (Бобровских, 1989; Беспятова, Бугмырин, 2012). Из перечисленных клещей два вида *I. persulcatus* и *I. ricinus* – переносчики возбудителей опасных заболеваний человека – имеют первостепенное медицинское значение.

Изучение иксодовых клещей проводится в Карелии с 1940-х годов по настоящее время. Анализ данных, полученных более чем за 70-летний период, позволил проследить основные изменения географического распространения *I. persulcatus* и *I. ricinus*, которые определяются существенным расширением ареала *I. persulcatus* в северном и западном направлениях и снижением численности *I. ricinus* (Хейсин, 1950; Лутта, Шультман, 1954; Лутта и др., 1959; Бобровских, 1989; Беспятова, Бугмырин, 2012, 2017, 2021; Бугмырин и др., 2013; Bugmyrin et al., 2013). По результатам наших исследований, проведенных в Карелии с 2007 по 2018 годы, были получены данные о пространственной и временной динамике зараженности *I. persulcatus* и *I. ricinus* возбудителями вирусных и бактериальных инфекций (Bugmyrin et al., 2022).

В настоящее время краудсорсинговый подход в исследовании (привлечение населения для выполнения какой-либо работы) находит широкое применение в биологии и медицине, поскольку за ограниченный промежуток времени позволяет получить большой объем информации. В Финляндии в 2015 г. в рамках национального краудсорсинга было собрано около 20 тыс. клещей, анализ которых позволил оценить как особенности пространственного размещения иксодовых клещей, так и разнообразие, и встречаемость патогенов у *I. persulcatus* и *I. ricinus* в разных географических зонах (Laaksonen et al., 2017, 2018; Kulha et al., 2022).

Анализ иксодовых клещей, поступающих от населения из разных районов Карелии, на их зараженность возбудителями особо опасных инфекций проводится в г. Петрозаводск в «Центре гигиены и эпидемиологии в Республике Карелия» (ЦГЭ). Ежегодно число обращений составляет более 3 тыс. (Государственный доклад о состоянии окружающей среды в Республике Карелия, 2022), что создает возможность для реализации на базе ЦГЭ регионального «краудсорсинга». Протокол исследования клещей в ЦГЭ не предусматривает определение вида переносчика, поэтому в 2019 и 2021 годах нами была проведена специальная работа по видовой диагностике клещей, полученных от населения. Цель исследования – определение видового состава клещей и оценка их зараженности возбудителями особо опасных инфекций.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили с мая по сентябрь в 2019 и 2021 гг. на базе «Центра гигиены и эпидемиологии в Республике Карелия» (ЦГЭ), расположенного в г. Петрозаводск. Всего за два года в ЦГЭ от населения поступило около 6.5 тыс. экз. клещей, из которых 2496 экз. были определены до вида. В анкете, заполняемой при регистрации каждого клеща, указана информация по дате и месту (административном районе) возможного присасывания. Определение вида клеща проводили прижизненно с использованием стереомикроскопа (x14) по морфологическим признакам (Филиппова, 1977, 1997).

Выделение РНК из клещевой суспензии и обратную транскрипцию выполняли с помощью наборов РНК/ДНК «РИБО-преп» и РЕВЕРТА-Л» (ЦНИИ эпидемиологии, Россия). Полученную кДНК использовали для выявления вируса клещевого энцефалита (ВКЭ), боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato*, аноплазмы – *Anaplasma phagocytophilum*, эрлихий – *Ehrlichia chaffeensis* / *E. muris* методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией (real-time PCR) набором реагентов «АмплиСенс® TBEV, B. burgdorferi sl, A. phagocytophilum, E. chaffeensis/E. muris – FL» (ЦНИИ Эпидемиологии, Россия) согласно протоколу производителей.

Для описания зараженности иксодовых клещей возбудителями инфекций были рассчитаны показатели их встречаемости и доверительные интервалы (95%). Различия оценивались с помощью точного критерия Фишера (Fisher's Exact Test) при уровне значимости $p < 0.05$. Расчеты выполнены в программе Quantitative Parasitology (Reiczigel et al., 2019).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате видовой диагностики клещей, поступивших в 2019 и 2021 гг., определено 6 видов, относящихся к семейству Ixodidae: *Ixodes persulcatus* – 2318 экз. (2232 самки, 76 самцов и 10 нимф), *I. ricinus* – 123 экз. (111 самок, 2 самца и 10 нимф), *Dermacentor marginatus* (Sulzer, 1776) – 1 экз. (самка), *D. reticulatus* Fabricius, 1794 – 1 экз. (самка), *Hyalomma marginatum* Koch, 1844 – 1 экз. (самец) и *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) – 1 экз. (самка).

Для 55 клещей (из 2496), куда вошли и все не обитающие в Карелии виды (*D. marginatus*, *D. reticulatus*, *H. marginatum*, *R. sanguineus*), район возможного нападения расположен за пределами Республики Карелия (рис. 1).

Значительное большинство клещей, поступивших с территории республики (95% от общего числа), приходится на *I. persulcatus*. Случаи нападения *I. persulcatus* на человека чаще всего регистрировались в центральных районах южной Карелии – Прионежском, Кондопожском и Пряжинском. Находки клещей в северных районах Карелии были единичными (рис. 2).

Доля в общих сборах клеща *I. ricinus* составила 3%. Большинство особей были доставлены из ближайшего к ЦГЭ Прионежского района, при этом вид был отмечен и на севере Карелии (рис. 2).

Согласно данным по обращаемости населения в ЦГЭ, активность нападения иксодовых клещей в Карелии наблюдалась с апреля по октябрь, с максимальными

значениями в мае (рис. 3). Данная ситуация, главным образом, определяется ходом сезонной активности *I. persulcatus*, максимальная численность которого в 2019 и 2021 годах отмечена во вторую и третью декады мая (рис. 4). Самая поздняя регистрация таежного клеща (питающаяся самка) датирована в Карелии 13 сентября (2019 г.). Активность европейского лесного клеща наблюдалась с июня по октябрь, с максимумом в августе – сентябре (рис. 5).

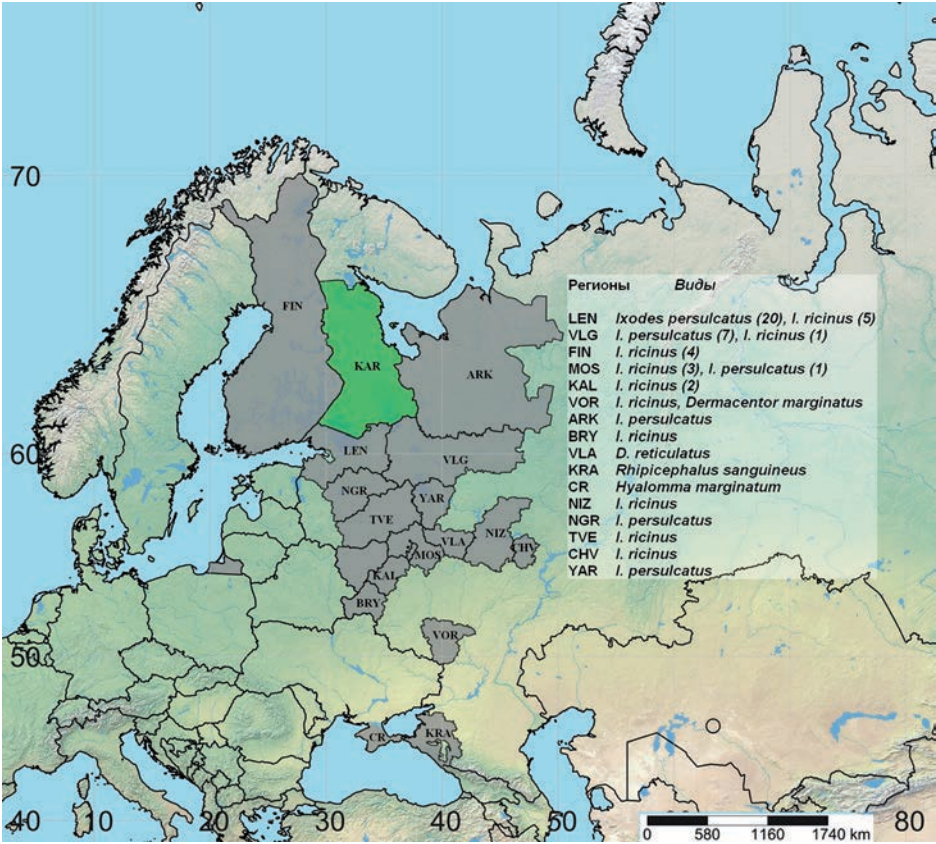


Рисунок 1. Клещи, поступившие в Центр гигиены и эпидемиологии Республики Карелия (зеленый) из других регионов (серый): ARK – Архангельская область, BRY – Брянская область, CHV – Чувашская Республика, CR – Республика Крым, FIN – Финляндия, KAL – Калужская область, KAR – Республика Карелия KRA – Краснодарский край, LEN – Ленинградская область, MOS – Московская область, NGR – Новгородская область, NIZ – Нижегородская область, TVE – Тверская область, VLA – Владимирская область, VLG – Вологодская область, VOR – Воронежская область, YAR – Ярославская область.

Figure 1. Ticks delivered to the Center for Hygiene and Epidemiology of the Republic of Karelia (green) from other regions (gray): ARK – Arkhangelsk Province, BRY – Bryansk Province, CHV – Chuvash Republic, CR – Republic of Crimea, FIN – Finland, KAL – Kaluga Province, KAR – Republic of Karelia, KRA – Krasnodar Territory, LEN – Leningrad Province, MOS – Moscow Province, NGR – Novgorod Province, NIZ – Nizhny Novgorod Province, TVE – Tver Province, VLA – Vladimir Province, VLG – Vologda Province, VOR – Voronezh Province, YAR – Yaroslavl Province.

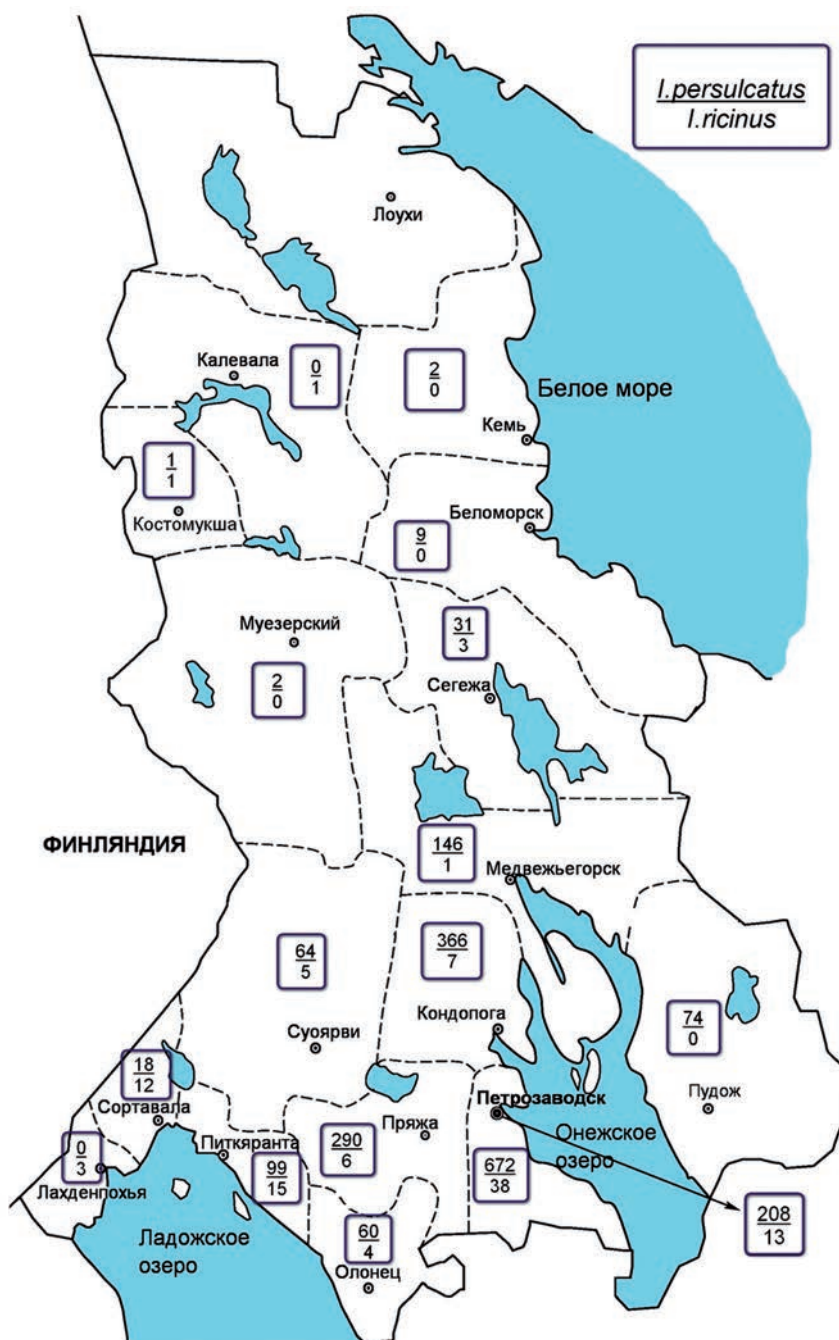


Рисунок 2. Число клещей, поступивших из разных муниципальных районов Карелии: для каждого района в числителе – *I. persulcatus*, в знаменателе – *I. ricinus*.

Figure 2. Distribution of tick deliveries to the Center for Hygiene and Epidemiology of the Republic of Karelia by provenance (districts of Karelia).

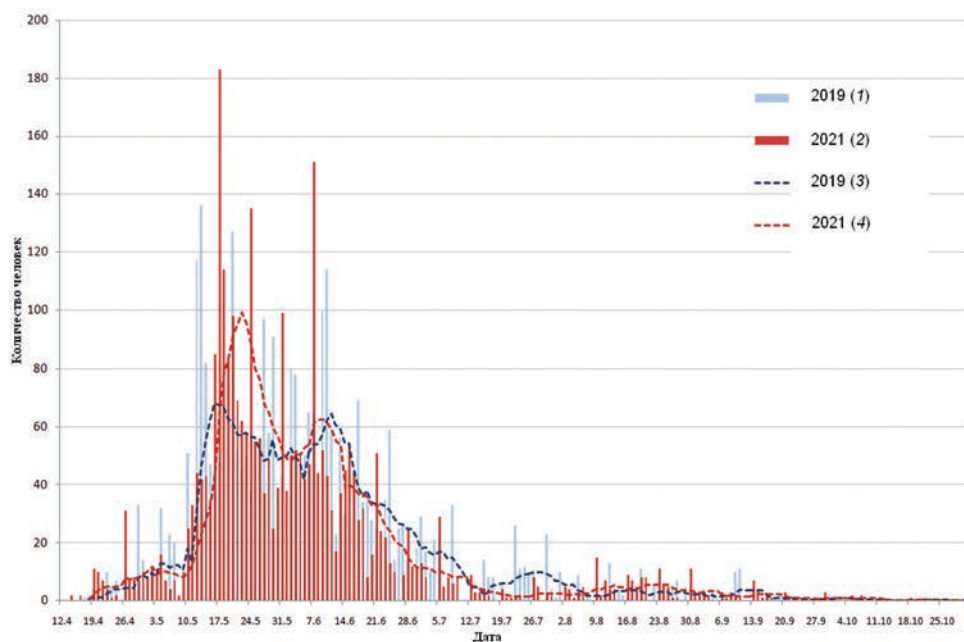


Рисунок 3. Обращаемость населения в Республиканский центр гигиены и эпидемиологии РК (г. Петрозаводск) в связи с присасыванием клещей: 1 и 2 – количество человек в сутки, 3 и 4 – среднее за неделю.

Figure 3. Appeals for service detected by the Center for Hygiene and Epidemiology of the Republic of Karelia (Petrozavodsk) after tick attacks: 1 and 2 – number of persons per day, 3 and 4 – weekly average.

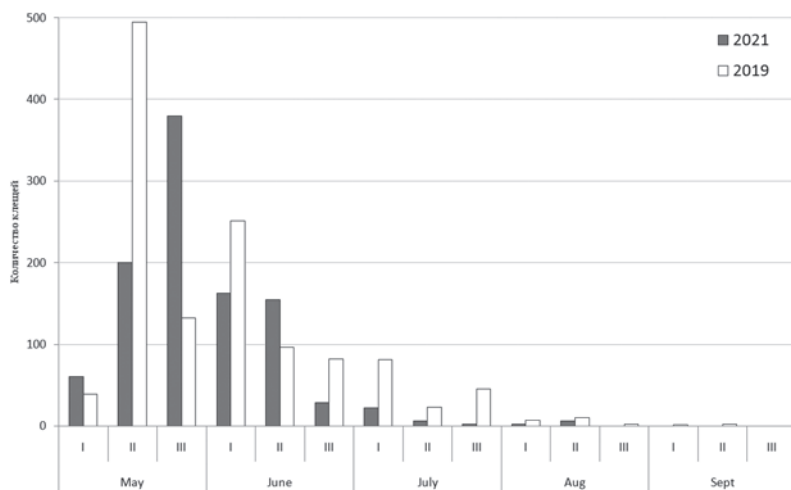


Рисунок 4. Сезонная активность *Ixodes persulcatus* в Карелии по данным обращаемости населения в Центр гигиены и эпидемиологии РК.

Figure 4. Seasonal activity of *Ixodes persulcatus* in Karelia based on appeals for service detected by the Center for Hygiene and Epidemiology of the Republic of Karelia.

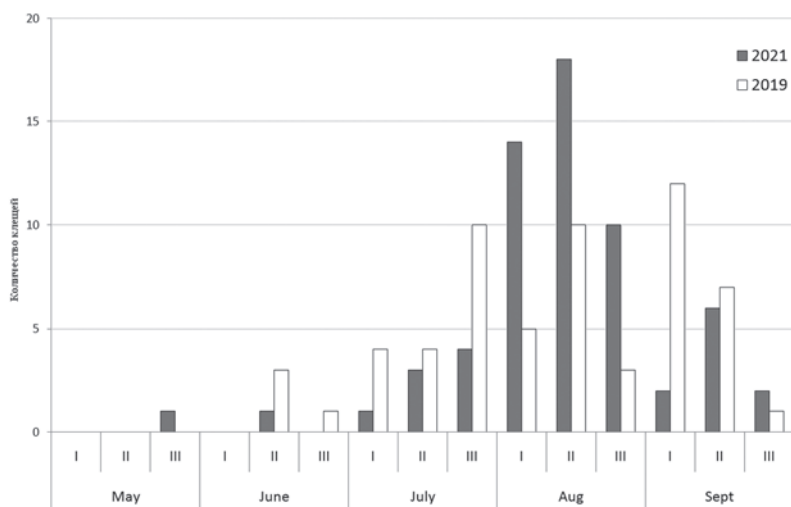


Рисунок 5. Сезонная активность *Ixodes ricinus* в Карелии по данным обращаемости населения в Центр гигиены и эпидемиологии РК.

Figure 5. Seasonal activity of *Ixodes ricinus* in Karelia based on appeals for service detected by the Center for Hygiene and Epidemiology of the Republic of Karelia.

Встречаемость ВКЭ в *I. persulcatus* в 2019 и 2021 гг. составила 1.5% [1.9–2.9]. Вирус выявлен в клещах из восьми муниципальных районов Карелии (табл. 1). Различия в зараженности самок (1.5% [1.1–2.1]) и самцов (3.0% [0.5–10.2]) *I. persulcatus* не значимы ($p > 0.05$). У взрослых *I. ricinus* ($n = 123$) и нимф *I. persulcatus* ($n = 10$) ВКЭ не выявлен.

Таблица 1. Встречаемость основных возбудителей инфекций человека в районах Карелии (данные за 2019 и 2021 гг.)

Table 1. Distribution of tick-borne pathogens across Karelia (data for 2019 and 2021)

Район, год	Поступило клещей, экз.		Встречаемость возбудителей инфекций			
			ВКЭ	<i>Borrelia burgdorferi</i> s. l.	<i>Ehrlichia</i> *	
	<i>I.per</i>	<i>I.ric</i>	<i>I.per</i>	<i>I.per</i>	<i>I.ric</i>	<i>I.per</i>
Прионежский	672	38	1.5%	28.7%	13%	3.4%
Кондопожский	366	7	1.6%	35%	3 из 7 экз.	5.5%
Пряжинский	290	6	1.0%	33.1%	2 из 6	3.1%
г. Петрозаводск	208	13	1.9%	31.7%	3 из 13	2.4%
Медвежьегорский	146	1	2.1%	32.9%	0	1.4%
Питкярантский	99	15	1.0%	27.3%	7%	1.0%

Таблица 1. Продолжение
Table 1. Continuation

Район, год	Поступило клещей, экз.		Встречаемость возбудителей инфекций			
			БКЭ	<i>Borrelia burgdorferi</i> s. l.	<i>Ehrlichia</i> *	
	<i>I.per</i>	<i>I.ric</i>	<i>I.per</i>	<i>I.per</i>	<i>I.ric</i>	<i>I.per</i>
Пудожский	74	0	1.4%	25.7%	-	8.1%
Суоярвский	64	5	3.1%	40.6%	1 из 5	3.1%
Олонецкий	60	4	0	33.3%	2 из 4	3.3%
Сегежский	31	3	0	29%	0	3.2%
Сортавальский	18	12	0	22%	2 из 12	0
Беломорский	9	0	0	0	-	0
Лахденпохский	0	3	-	-	0	-
Кемский	2	0	0	1 из 2	-	0
Муезерский	2	0	0	0	-	0
Костомукшский ГО	1	1	0	0	0	0
Калевальский	0	1	-	-	0	-
Район не указан	276	14	1.8%	42.4%	1 из 14	2.2%
2019	1287	61	1.5%	38.6%	13.1%	3.4
2021	1031	62	1.5%	24.9%	19.3%	3.3
Итого	2318	123	1.5% [1.9–2.9]	32.5% [30.6–34.5]	16.3% [10.8–23.8]	3.3% [2.7–4.1]

Примечания. **Ehrlichia chaffeensis* / *E. muris*; БКЭ – вирус клещевого энцефалита (Tick-borne encephalitis virus); *I.per* – *Ixodes persulcatus*; *I.ric* – *Ixodes ricinus*. При малом (<15 экз.) количестве исследованных клещей приводится число зараженных (например, 3 из 7 экз. и т.д.); 0 – возбудители инфекций не обнаружены; прочерк – клещи не исследованы.

Боррелии комплекса *B. burgdorferi* s. l. были обнаружены у иксодовых клещей в большинстве районов Карелии, за исключением территорий с небольшим числом исследованных особей (табл. 1). Зараженность *I. persulcatus* боррелиями составила 32.5% [30.6–34.5], что выше ($p < 0.05$), чем у *I. ricinus* – 16.3% [10.8–23.8]. Различия зараженности самок – 33.1% [31.2–35.1] и самцов – 38.8% [27.5–51.2] *I. persulcatus* не значимы ($p > 0.05$). Боррелии также были выявлены у одной из 10 исследованных нимф *I. persulcatus*.

Встречаемость *Ehrlichia* sp. у *I. persulcatus* составила 3.3% (табл. 1). У единственной самки *I. ricinus* из Прионежского района в августе 2021 г. была отмечена

Ehrlichia sp. (зараженность 0.8%). Единственный случай обнаружения *Anaplasma phagocytophilum* был зарегистрирован у самки *I. persulcatus* (зараженность 0.04%) в Пудожском районе.

ОБСУЖДЕНИЕ

Большинство иксодовых клещей поступило из районов, расположенных на территории Карелии. Вместе с тем, для 2% клещей было отмечено, что их нападение на человека (или домашних животных) произошло за пределами республики. Как правило, это граничащие с Карелией более южные Ленинградская и Вологодская области (рис. 1). Самый дальний случай завоза клещей человеком был зарегистрирован в июне 2021 г., когда место нападения клеща было указано «Приморский край» (вид клеща не известен). Подобные случаи обычны. Длительный период питания и способность выживать в голодном состоянии делают возможным даже трансконтинентальный перенос иксодовых клещей (Jaenson et al., 1994; Ляпунов и др., 2012). Среди поступивших в ЦГЭ иксодовых клещей были и виды, не обитающие в Карелии, – *D. marginatus*, *D. reticulatus*, *H. marginatum*, *Rh. sanguineus*. До недавнего времени только *D. marginatus* был отмечен в Карелии (Котовский, Бугмырин, 2013). Голодная самка была собрана с собаки при проведении учетов в городском парке Петрозаводска, что может быть следствием заноса вида ещё на фазе нимфы. В июле 2021 г. в материалах из ветеринарной клиники г. Олонца (юг Карелии) была обнаружена питавшаяся самка *D. reticulatus*, снятая с собаки. Поскольку информации о месте присасывания клеща нет, нельзя исключать заносной характер и этой находки.

Полученные в ходе исследований результаты подтверждают выводы по видовому составу и распространению основных переносчиков возбудителей природноочаговых болезней в Карелии (Беспятова, Бугмырин, 2012, 2021; Bugmyrin et al., 2013, 2019). Наиболее массовым видом на большей части территории Карелии является *I. persulcatus*, который определяет характер сезонной динамики и эпидемиологию трансмиссивных инфекций. В отличие от данных о числе активных клещей, собранных с растительности, данные о числе клещей, поступивших в медицинские учреждения, зависят не только от численности переносчика в конкретном районе, но и от плотности населения, а также удаленности этого места от административного центра (г. Петрозаводск). Так, больше всего клещей в ЦГЭ поступило из ближайших муниципальных образований. В то время как из удаленных Суоярвского, Питкярантского и Пудожского районов клещей поступило меньше, причем локальная численность *I. persulcatus* здесь может достигать высоких значений (Bugmyrin et al., 2013; Беспятова, Бугмырин, 2017).

Европейский лесной клещ регистрировался на всей территории южной Карелии, за исключением самого восточного Пудожского района (рис. 2), что согласуется с результатами полевых исследований (Беспятова, Бугмырин, 2021). Сезонная активность этого вида в Карелии наступает позже, чем у *I. persulcatus* (рис. 5), и продолжается до

ноября. В 2021 г. в Кондопожском районе недопитавшаяся самка *I. ricinus* была снята с собаки 29 ноября. Самая высокая численность этого вида в сборах с растительности в Карелии отмечена в Лахденпохском районе (Беспятова, Бугмырин, 2021), однако его удаленность от Петрозаводска сказалась на малом числе поступивших в ЦГЭ клещей.

Факты единичных находок взрослых особей *I. persulcatus* и *I. ricinus* в северных районах Карелии (Калевальском, Кемском и Лоухском) пока недостаточны для доказательства длительного существования здесь локальных популяций. Велика вероятность заноса нимф клещей, например, птицами, к тому же место обнаружения клеща (на себе или домашнем животном) часто не совпадает с местом его нападения. Вместе с тем, участвовавшие в последние годы случаи регистрации взрослых иксодовых клещей в Сегежском и Беломорском районах, могут свидетельствовать о смещении границ их ареалов на север (в первую очередь *I. persulcatus*), по сравнению с предшествующим периодом (Хейсин, 1950; Бугмырин и др., 2013), и расширении территории, потенциально опасной по клещевым инфекциям.

Анализ встречаемости инфекций показал более высокую зараженность клеща *I. persulcatus* по сравнению с *I. ricinus*, что согласуется с ранее полученными данными на материале из природы (Bugmyrin et al., 2022). Мы не выявили ВКЭ в *I. ricinus*, что указывает на низкую встречаемость вируса у этого переносчика. Ранее в Карелии вирус отмечали у *I. ricinus* только на островах, в местах его совместного обитания с *I. persulcatus* (Bugmyrin et al., 2022). В *I. persulcatus* вирус зарегистрирован во многих районах южной Карелии с частотой встречаемости 1–3%, и его отсутствие в нашем исследовании на севере и юго-западе Карелии определяется недостаточным числом исследованных клещей. Общая зараженность клещей ВКЭ, поступивших от населения, ниже, чем у клещей, собранных с растительности (1.5 против 4.4%) (Bugmyrin et al., 2022). Согласно ряду работ (Мельникова и др., 1997; Романенко, Кондратьева, 2011; Suss et al., 2004), встречаемость вируса КЭ у питавшихся клещей выше, чем у голодных, что определяется, с одной стороны, репликацией вируса при питании клеща, с другой – большей подвижностью зараженных особей (Алексеев и др., 1988; Belova et al., 2012). Более высокая зараженность клещей, собранных в природных условиях, по сравнению с зараженностью клещей, полученных от населения, может быть связана с пространственной неоднородностью территории по встречаемости вируса КЭ. Так, по результатам предыдущих исследований в Карелии значительная часть клещей была собрана в очаге КЭ (д. Гомсельга) с высокими показателями заражения вирусом (около 7%), что, в свою очередь, определило и более высокие средние значения (Bugmyrin et al., 2022). Материал, полученный от населения, рандомизирован и не имеет локальной привязки к конкретному очагу.

Боррелии комплекса *B. burgdorferi* s. l. – наиболее часто выявляемые возбудители инфекции в Карелии в клещах *I. persulcatus* и *I. ricinus*. Во всех районах, где были отмечены боррелии, зараженность *I. persulcatus* не опускалась ниже 22%, а самая высокая встречаемость составила 40% (Суоярвский район). Из-за небольшого числа

исследованных клещей *I. ricinus* мы не можем оценить пространственное распространение боррелий у этого вида, но, по общему показателю, встречаемость боррелий в *I. ricinus* ниже, чем в *I. persulcatus*.

В целом подобную картину – более низкую зараженность *I. ricinus* по сравнению с *I. persulcatus* – наблюдали и в других районах симпатрии этих видов клещей (Korenberg et al., 2001; Коротков и др., 2008; Geller et al., 2013; Katargina et al., 2013; Laaksonen et al., 2017). В то же время в местах одиночного обитания *I. ricinus* (например, Норвегии и Финляндии) показатели зараженности как боррелиями, так и ВКЭ могут достигать высоких значений (Pettersson et al., 2014; Soleng et al., 2018; Sormunen et al., 2020; Vikse et al., 2020). Различия в зараженности двух переносчиков во многом определяются экологическими характеристиками конкретного местообитания, которые включают в себя и видовой состав основных прокормителей взрослых и личиночных фаз развития иксодовых клещей (Кисленко и др., 1993; Бахвалова и др., 2001; Gandy et al., 2021). Ранее для территории Финляндии было показано, что разнообразие и уровень зараженности *I. ricinus* бактериями выше в районах одиночного обитания этого вида, по сравнению с районами совместного обитания с *I. persulcatus* (Laaksonen et al., 2018). В Карелии *I. ricinus* абсолютно доминирует только на территории Лахденпохского района, однако результаты настоящего исследования и ранее полученные данные свидетельствуют о менее напряженной здесь эпидемиологической ситуации по клещевым инфекциям, по сравнению с ситуацией в центральных районах южной Карелии.

Помимо ВКЭ и боррелий комплекса *B. burgdorferi* s. l., в клещах, поступивших в ЦГЭ, были выявлены возбудители моноцитарного эрлихиоза (*Ehrlichia chaffeensis* / *E. muris*) и гранулоцитарного анаплазмоза (*Anaplasma phagocytophilum*). *Ehrlichia* sp. обнаружена в *I. persulcatus* во многих районах Карелии, и уровень зараженности согласуется с данными из природы (Bugmyrin et al., 2022). Этот возбудитель впервые обнаружен в Карелии в клещах *I. ricinus*.

Anaplasma phagocytophilum – возбудитель гранулоцитарного анаплазмоза, редкий в Карелии вид. В 2021 г. при исследовании более 3 тыс. клещей было зарегистрировано лишь 3 положительных случая (Государственный доклад о состоянии..., 2022), один из которых – завозной (*I. ricinus* из Воронежской обл.), второй из г. Петрозаводска (вид клеща не определен) и третий – *I. persulcatus* – на востоке Карелии. В районах симпатрии двух видов клещей *A. phagocytophilum* чаще выявляют в *I. ricinus* (Masuzawa et al., 2008; Katargina et al., 2012), хотя в ареале *I. persulcatus* встречаемость этого патогена может достигать высоких значений (Rar et al., 2010; Stuen et al., 2013).

В Карелии взрослые особи иксодовых клещей являются основными переносчиками возбудителей инфекций человеку, доля нимф от общего числа просмотренных в ЦГЭ клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* составляла всего около 0.4 и 9%, соответственно. Это согласуется с результатами полевых исследований, демонстрирующих низкую числен-

ность нимф как *I. persulcatus* (Bugmyrin et al., 2019), так и *I. ricinus* (Беспятова, Бугмырин, 2021) в сборах с растительности на флаг. В западной Европе именно нимфы *I. ricinus* играют существенную роль в непосредственной передаче патогенов человеку (Gray et al., 2016). Такие различия в соотношении клещей взрослой и нимфальной фазы в сборах из разных регионов обычны и связаны с комплексом биотических и абиотических условий, определяющих, в первую очередь, вероятность нападения нимф на более крупных млекопитающих (Korotkov et al., 2015). Несмотря на то, что значительное большинство поступивших клещей были самками, значение самцов как переносчиков инфекций, особенно клещевого энцефалита, нельзя недооценивать. Показатели зараженности клещевыми инфекциями самцов и самок *I. persulcatus* сходны, а соотношение в природной популяции близко к 1 : 1 (Bugmyrin, Gorbach, 2022). Самцы клещей рода *Ixodes* являются афагами, однако возможно их непродолжительное прикрепление к прокормителям (Балашов, 1967; Леонович, 2022). Вместе с тем ВКЭ локализуется в слюнных железах клеща и попадает в кровь сразу при повреждении кожного покрова (Алексеев, Чунихин, 1990).

Результаты, полученные в нашем исследовании, основаны на анализе лишь 40% от общего числа поступивших в ЦГЭ клещей, которые были определены до вида. В абсолютных значениях это составляет сотни особей, что стало достаточным для оценки общей ситуации по распространению иксодовых клещей и переносимых ими инфекций в Карелии. На сегодняшний день на территории республики основным переносчиком опасных инфекций с высокими показателями заражения является *I. persulcatus*. Широкое распространение и высокая численность этого вида определяют эпидемиологическую ситуацию в изучаемом регионе.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарны Г.Г. Каргановой и О.А. Беловой (Институт полиомиелита, Москва) за ценные замечания и предложения при подготовке рукописи статьи. Мы признательны двум рецензентам за полезные комментарии.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания ИБ КарНЦ РАН (№ г.р. 122032100130-3) и проекта DIAS (Данные по инвазионным и чужеродным видам, № КА5046).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеев А.Н., Буренкова Л.А., Чунихин С.П. 1988. Особенности поведения *Ixodes persulcatus* P. Sch., зараженных вирусом клещевого энцефалита. Медицинская паразитология и паразитарные болезни (2): 71–75. [Alekseev A.N., Burenkova L.A., Chunikhin S.P. 1988. Behavioral characteristics of *Ixodes persulcatus* P. Sch. ticks infected with the tick-borne encephalitis virus. Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni (2): 71–75. (in Russian)].
- Алексеев А.Н., Чунихин С.П. 1990. Передача вируса клещевого энцефалита иксодовыми клещами в эксперименте (механизмы, сроки, видовые и половые различия). Паразитология 24 (3): 177–185. [Alekseev

- A.N., Chunikhin S.P. 1990. Transmission of the tick-borne encephalitis virus by ixodid ticks in the experiment (mechanisms, terms, species and sexual distinctions). *Parazitologia* 24 (3): 177–185. (in Russian)].
- Балашов Ю.С. 1967. Кровососущие клещи (Ixodoidea) – переносчики болезней человека и животных. Л., Наука, 320 с. [Balashov Yu.S. 1967. Krovososushchie kleshchi (Ixodoidea) – perenoschiki boleznej cheloveka i zhivotnyh. Leningrad, Nauka, 320 pp. (in Russian)].
- Балашов Ю.С. 1982. Паразито-хозяйинные отношения членистоногих с наземными позвоночными. Л., Наука, 320 с. [Balashov Yu.S. 1982. Parazito-hozyainnye otnosheniya chlenistonogih s nazemnymi pozvonochnymi. Leningrad, Nauka, 320 pp. (in Russian)].
- Бахвалова В.Н., Морозова О.В., Добротворский А.К., Панов В.В., Матвеева В.А., Попова Р.В., Коробова С.А. 2001. Участие обыкновенной бурозубки *Sorex araneus* (Insectivora, Soricidae) в циркуляции вируса клещевого энцефалита на юге Западной Сибири. *Паразитология* 35 (5): 376–385. [Bakhvalova V.N., Morozova O.V., Dobrotvorskyy A.K., Panov V.V., Matveeva V.A., Popova R.V., Korobova S.A. 2001. Involvement of the common shrew *Sorex araneus* (Insectivora, Soricidae) in circulation of the tick-borne encephalitis virus in the south of Western Siberia. *Parazitologia* 35 (5): 376–385. (in Russian)].
- Государственный доклад о состоянии окружающей среды Республики Карелия в 2021 г. Петрозаводск, Министерство природных ресурсов и экологии Республики Карелия 2022. 263 с. [Gosudarstvennyi doklad o sostoianii okruzhaiushchei sredy Respubliki Karelia v 2021. Petrozavodsk, 263 pp. (In Russian)]
- Беспятова Л.А., Бугмырин С.В. 2021. О распространении европейского лесного клеща *Ixodes ricinus* (Acarina, Ixodidae) в Республике Карелия (Россия). *Зоологический журнал* 100 (7): 745–755. [Bespyatova L.A., Bugmyrin S.V. 2021. On the distribution of the castor bean tick, *Ixodes ricinus* (Acarina, Ixodidae), in the Republic of Karelia, Russia. *Zoologicheskii Zhurnal* 100 (7): 745–755. (in Russian)]. <https://doi.org/10.31857/S0044513421070035>
- Беспятова Л.А., Бугмырин С.В. 2017. Видовой состав, распространение основных переносчиков и эпидемиологическая ситуация по клещевому энцефалиту в Республике Карелия. *Актуальные вопросы ветеринарной биологии* 1 (33): 13–20. [Bespyatova L.A., Bugmyrin S.V. 2017. Species composition, distribution of the disease vectors and epidemiology of tick-borne encephalities in the Republic of Karelia. *Actual Questions of Veterinary Biology* 1 (33): 13–20. (in Russian)].
- Беспятова Л.А., Бугмырин С.В. 2012. Иксодовые клещи Карелии (распространение, экология, клещевые инфекции). Петрозаводск, Карельский научный центр РАН, 100 с. [Bespyatova L.A., Bugmyrin S.V. 2012. Ixodid ticks of Karelia (distribution, ecology, the main tick-borne infect). Petrozavodsk, Karelian Research Centre of RAS, 100 pp. (in Russian)].
- Бобровских Т.К. 1989. Иксодовые клещи (подсемейство Ixodinae) Карелии. Петрозаводск, Карельский филиал АН СССР, 85 с. [Bobrovskih T.K. 1989. Iksodovye kleshchi (podsejstvo Ixodinae) Karelii. Petrozavodsk, Karel'skij filial AN SSSR, 85 pp. (in Russian)].
- Бугмырин С.В., Назарова Л.Е., Беспятова Л.А., Иешко Е.П. 2013. К вопросу о северной границе распространения *Ixodes persulcatus* (Acari: Ixodidae) в Карелии. *Известия Российской академии наук. Серия биологическая* (2): 240–244. [Bugmyrin S.V., Nazarova L.E., Bespyatova L.A., Ieshko E.P. 2013. Concerning the problem of the northern limit of *Ixodes persulcatus* (Acari: Ixodidae) distribution in Karelia. *Biology Bulletin* 40 (2): 217–220]. <https://doi.org/10.1134/S1062359013020039>
- Кисленко Г.С., Коротков Ю.С., Чунихин С.П., Караванов А.С. 1993. Опыт серологического обследования мелких млекопитающих в природном очаге клещевого энцефалита Средней Сибири. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни* (3): 34–38. [Kislenko G.S., Korotkov Yu.S., Chunikhin S.P., Karavanov A.S. 1993. Opyt serologicheskogo issledovaniya melkikh mlekopitayushchikh v prirodnom ochage kleshchevogo entsefalita Sredney Sibiri. *Meditinskaya parazitologiya i parazitarnyye bolezni* (3): 34–38. (in Russian)].

- Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. 2013. Природноочаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. М., Комментарий, 463 с. [Korenberg E.I., Pomelova V.G., Osin N.S. 2013. Infections with natural focality transmitted by Ixodid ticks. M., Kommentarij, 463 pp. (in Russian)].
- Коротков Ю.С., Кисленко Г.С., Буренкова Л.А., Рудникова Н.А., Карань Л.С. 2008. Пространственная и временная изменчивость зараженности клещей *Ixodes ricinus* и *Ixodes persulcatus* возбудителем болезни Лайма в Московской области. Паразитология 42 (6): 441–451. [Korotkov Yu.S., Kisenko G., Burenkova L. A., Rudnikova N.A., Karan L.S. 2008. Spatial and temporal variability of *Ixodes ricinus* and *Ixodes persulcatus* infection with the Lyme disease agent in Moscow region. Parazitologia 42 (6): 441–451. (in Russian)].
- Котовский Н.Ю., Бугмырин С.В. 2013. Находка *Dermacentor marginatus* (Acari, Ixodidae) в Карелии (Россия). Зоологический журнал 92 (4): 490–491. [Kotovskii N.Yu., Bugmyrin S.V. 2013. A finding of *Dermacentor marginatus* (Acari, Ixodidae) in Karelia. Zoologicheskij Zhurnal 92 (4): 490–491. (in Russian)]. <https://doi.org/10.7868/S0044513413040089>
- Леонович С.А. 2022. Афагия самцов у иксодовых клещей подсемейства Ixodinae. Паразитология 56 (4): 267–281. [Leonovich S.A. 2019. Male aphagia in ixodid ticks of the subfamily Ixodinae. Parazitologia 56 (4): 267–281. (in Russian)]. <https://doi.org/10.31857/S0031184722040019>
- Лутта А.С., Хейсин Е.М., Шульман Р.Е. 1959. К распространению иксодовых клещей в Карелии. Вопросы паразитологии Карелии: Труды Карельского филиала АН СССР XIV: 72–83. [Lutta A.S., Kheisin E.M., Shul'man R.E. 1959. K rasprostraneniyu iksodovykh kleshchej v Karelii. Voprosy parazitologii Karelii: Trudy Karel'skogo filiala AN SSSR XIV: 72–83. (in Russian)].
- Лутта А.С., Шульман Р.Е. 1954. О западной границе распространения *Ixodes persulcatus* P. Sch. Зоологический журнал 33 (6): 1231–1235. [Lutta A.S., Shul'man R.E. 1954. On the western boundary of *Ixodes persulcatus* distribution in the territory of Karelian-Finnish ASSR. Zoologicheskij Zhurnal 33 (6): 1231–1235 (in Russian)].
- Ляпунов А.В., Хаснатинов М.А., Арбатская Е.В., Данчинова Г.А. 2012. Находка клеща *Amblyomma americanum* L., 1758 в Восточной Сибири (Россия). Проблемы особо опасных инфекций 1 (111): 99–101. [Lyapunov A.V., Khasnatinov M.A., Arbatskaya E.V., Danchinova G.A. 2012. Findings of *Amblyomma americanum* L., 1758 in the Territory of Eastern Siberia (Russia). Problems of Particularly Dangerous Infections 1(111): 99–101. (in Russian)]. [https://doi.org/10.21055/0370-1069-2012-1\(111\)-99-101](https://doi.org/10.21055/0370-1069-2012-1(111)-99-101)
- Мельникова О.В., Ботвинкин А.Д., Данчинова Г.А. 1997. Сравнительные данные о зараженности клещевым энцефалитом голодных и питавшихся таежных клещей (по результатам иммуноферментного анализа). Медицинская паразитология и паразитарные болезни 1: 44 – 49. [Melnikova O.V., Botvinkin A.D., Danchinova G.A., 1997. Comparative data on tick-borne encephalitis virus infection of the hungry and fed ticks (on the results of ELISA). Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni (1): 44–49. (in Russian)].
- Романенко В.Н., Кондратьева Л.М. 2011. Зараженность иксодовых клещей, снятых с людей, вирусом клещевого энцефалита на территории города Томска и его окрестностей. Паразитология 45 (1): 3–10. [Romanenko V.N., Kondrat'eva L.M., 2011. The infection of ixodid ticks collected from humans with the tick-borne encephalitis virus in Tomsk city and its suburbs. Parazitologia 45 (1): 3–10. (in Russian)].
- Филиппова Н.А. 1977. Иксодовые клещи подсем. Ixodinae. Фауна СССР. Паукообразные, т. IV, вып. 4. Л., Наука, 396 с. [Filippova N.A., 1977. Ixodid Ticks of the Subfamily Ixodinae. Fauna of the USSR. Arachnoides, vol. 4, fasc. 4. Leningrad, Nauka, 396 pp. (In Russian)].
- Филиппова Н.А. 1997. Иксодовые клещи подсем. Amblyomminae. Фауна России и сопредельных стран. Паукообразные, Т. IV, вып. 5. СПб., Наука, 436 с. [Filippova N.A. 1997. Ixodid ticks of subfamily Amblyomminae. Fauna of Russia and neighboring countries. Arachnoidea, vol. 4, fasc. 5. St. Petersburg, Nauka, 436 pp. (In Russian)].

- Хейсин Е.М. 1950. К вопросу о северной границе распространения клещей в Карело-Финской ССР. Зоологический журнал 29 (6): 572–574. [Kheisin E.M. 1950. Northern boundary of propagation of ticks *Ixodes ricinus* and *Ixodes persulcatus* in Karelian-Finnish SSR. Zoologicheskii Zhurnal 29 (6): 572–574. (In Russian)].
- Belova O.A., Burenkova L.A., Karganova G.G. 2012. Different tick-borne encephalitis virus (TBEV) prevalences in unfed versus partially engorged ixodid ticks-evidence of virus replication and changes in tick behaviour. Ticks and Tick-borne Diseases 3 (4): 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.05.005>
- Bugmyrin S.V., Bespyatova L.A., Ieshko E.P., Korotkov Y.S., Burenkova L.A., Belova O.A., Romanova L.I., Kozlovskaya L.I., Karganova G.G. 2013. Distribution of *Ixodes ricinus* and *I. persulcatus* ticks in southern Karelia (Russia). Ticks and Tick-borne Diseases 4 (1-2): 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.07.004>
- Bugmyrin S.V., Bespyatova L.A., Korotkov Y.S. 2019. Long-term dynamics of *Ixodes persulcatus* (Acari: Ixodidae) abundance in the north-west of its range (Karelia, Russia). Experimental and Applied Acarology 77 (2): 229–240. <https://doi.org/10.1007/s10493-019-00342-y>
- Bugmyrin S.V., Gorbach V.V. 2022. Mark-release-recapture of ticks: A case study of estimating the abundance of *Ixodes persulcatus* (Acari, Ixodidae). Medical and Veterinary Entomology 36 (2): 185–193. <https://doi.org/10.1111/mve.12565>
- Bugmyrin S.V., Romanova L.Yu., Belova O.A., Kholodilov I.S., Bespyatova L.A., Chernokhaeva L.L., Gmyl L.V., Klimentov A.S., Ivannikova A.Y., Polienko A.E., Yakovlev A.S., Ieshko E.P., Gmyl A.P., Karganova G.G. 2022. Pathogens in *Ixodes persulcatus* and *Ixodes ricinus* ticks (Acari, Ixodidae) in Karelia (Russia). Ticks and Tick-borne Diseases 13 (6): 102045. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2022.102045>
- Gandy S., Kilbride E., Biek R., Millins C., Gilbert L. 2021. Experimental evidence for opposing effects of high deer density on tick-borne pathogen prevalence and hazard. Parasites Vectors 14: 509. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-05000-0>
- Geller J., Nazarova L., Katargina O., Golovljova I. 2013. *Borrelia burgdorferi* sensu lato prevalence in tick populations in Estonia. Parasites and Vectors 6: 202. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-202>
- Gray J.S., Kahl O., Lane R.S., Levin M.L., Tsao J.I. 2016. Diapause in ticks of the medically important *Ixodes ricinus* species complex. Ticks and Tick-borne Diseases 7(5): 992–1003. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.05.006>
- Guglielmone A.A., Robbins R.G. 2018. Hard ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae) parasitizing humans: A global overview. Berlin, Springer. 314 pp. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-95552-0>
- Jaenson T.G., Talleklint L., Lundqvist L., Olsen B., Chirico J., Mejlon H., 1994. Geographical distribution, host associations, and vector roles of ticks (Acari: Ixodidae, Argasidae) in Sweden. Journal of Medical Entomology 31 (2): 240–256. <https://doi.org/10.1093/jmedent/31.2.240>
- Katargina O., Geller J., Alekseev A., Dubinina H., Efremova G., Mishaeva N., Vasilenko V., Kuznetsova T., Järvekülg L., Vene S., Lundkvist A., Golovljova I. 2012. Identification of *Anaplasma phagocytophilum* in tick populations in Estonia, the European part of Russia and Belarus. Clinical Microbiology and Infection 18 (1): 40–46. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03457.x>
- Katargina O., Russakova S., Geller J., Kondrusik M., Zajkowska J., Zygotiene M., Bormane A., Trofimova Ju., Golovljova I. 2013. Detection and characterization of tick-borne encephalitis virus in Baltic Countries and Eastern Poland. PLoS ONE 8 (5): e61374. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061374>
- Korenberg E.I., Kovalevskii Y.V., Levin M.L., Shchyogoleva T.V. 2001. The prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes persulcatus* and *I. ricinus* ticks in the zone of their sympatry. Folia Parasitologica 48 (1): 63–68. <https://doi.org/10.14411/fp.2001.009>
- Korotkov Yu., Kozlova T., Kozlovskaya L. 2015. Observations on changes in abundance of questing *Ixodes ricinus*, castor bean tick, over a 35-year period in the eastern part of its range (Russia, Tula region). Medical and Veterinary Entomology 29 (2): 129–136. <https://doi.org/10.1111/mve.12101>

- Kulha N., Ruokolainen K., Vesterinen E.J., Lamppu M., Klemola T., Sormunen J.J. 2022. Does environmental adaptation or dispersal history explain the geographical distribution of *Ixodes ricinus* and *Ixodes persulcatus* ticks in Finland? *Ecology and Evolution* 12: e9538. <https://doi.org/10.1002/ece3.9538>
- Laaksonen M., Klemola T., Feuth E., Sormunen J.J., Puisto A., Mäkelä S., Penttinen R., Ruohomäki K., Hänninen J., Sääksjärvi I.E., Vuorinen I., Sprong H., Hytönen J., Vesterinen E.J. 2018. Tick-borne pathogens in Finland: Comparison of *Ixodes ricinus* and *I. persulcatus* in sympatric and parapatric areas. *Parasites and Vectors* 11: 556. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3131-y>
- Laaksonen M., Sajanti E., Sormunen J.J., Penttinen R., Hänninen J., Ruohomäki K., Sääksjärvi I., Vesterinen E.J., Vuorinen I., Hytönen J., Klemola T. 2017. Crowdsourcing-based nationwide tick collection reveals the distribution of *Ixodes ricinus* and *I. persulcatus* and associated pathogens in Finland. *Emerging Microbes and Infections* 6 (1): e31. <https://doi.org/10.1038/emi.2017.17>
- Masuzawa T., Kharitonov I.G., Okamoto Y., Fukui T., Ohashi N. 2008. Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* and its coinfection with *Borrelia afzelii* in *Ixodes ricinus* and *Ixodes persulcatus* ticks inhabiting Tver Province (Russia) – a sympatric region for both tick species. *Journal of Medical Microbiology* 57 (8): 986–991. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47721-0>
- Pettersson J.H., Golovljova I., Vene S., Jaenson T.G.T. 2014. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* ticks in northern Europe with particular reference to Southern Sweden. *Parasites and Vectors* 7: 102. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-102>
- Rar V.A., Livanova N.N., Panov V.V., Doroschenko E.K., Pukhovskaya N.M., Vysochina N.P., Ivanov L.I. 2010. Genetic diversity of *Anaplasma* and *Ehrlichia* in the Asian part of Russia. *Ticks and Tick-borne Diseases* 1 (1): 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2010.01.002>
- Reiczig J., Marozzi M., Fabian I., Rozsa L. 2019. Biostatistics for parasitologists – a primer to Quantitative Parasitology. *Trends in Parasitology* 35 (4): 277–281. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.01.003>
- Soleng A., Edgar K.S., Paulsen K.M., Pedersen B.N., Okbaldet Y.B., Skjetne I.E.B., Gurung D., Vikse R., Andreassen Å.K. 2018. Distribution of *Ixodes ricinus* ticks and prevalence of tick-borne encephalitis virus among questing ticks in the Arctic Circle region of northern Norway. *Ticks and Tick-borne Diseases* 9 (1): 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.10.002>
- Sormunen J.J., Andersson T., Aspi J., Bäck J., Cederberg T., Haavisto N., Halonen H., Hänninen J., Inkinen J., Kulha N., Laaksonen M., Loehr J., Mäkelä S., Mäkinen K., Norkko J., Paavola R., Pajala P., Petäjä T., Puisto A., Sippola E., Snickars M., Sundell J., Tanski N., Uotila A., Vesilähti Ella-Maria, Vesterinen E.J., Vuorenmaa S., Ylönen H., Ylönen J., Klemola T. 2020. Monitoring of ticks and tick-borne pathogens through a nationwide research station network in Finland, *Ticks and Tick-borne Diseases* 11 (5): 101449. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101449>
- Stuen S., Granquist E.G., Silaghi C. 2013. *Anaplasma phagocytophilum* – a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 3 (31): 1–33. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00031>
- Suss J., Schrader C., Falk U., Wohanka N. 2004. Tick-borne encephalitis (TBE) in Germany – epidemiological data, development of risk areas and virus prevalence in field-collected ticks and in ticks removed from humans. *International Journal of Medical Microbiology* 293 (Supplements 37): 69–79. [https://doi.org/10.1016/S1433-1128\(04\)80011-1](https://doi.org/10.1016/S1433-1128(04)80011-1)
- Vikse R., Paulsen K.M., Edgar K.S., Pettersson J.H.-O., Ottesen P.S., Okbaldet Y.B., Kiran N., Lamsal A., Lindstedt H.E.H., Pedersen B.N., Soleng A., Andreassen Å.K. 2020. Geographical distribution and prevalence of tick-borne encephalitis virus in questing *Ixodes ricinus* ticks and phylogeographic structure of the *Ixodes ricinus* vector in Norway. *Zoonoses Public Health* 67 (4): 370–381. <https://doi.org/10.1111/zph.12696>

TICKS AND TICK-BORNE INFECTIONS IN KARELIA: ANALYSIS OF TICKS
BROUGHT BY CITIZENS TO BE TESTED
AT THE CENTER FOR HYGIENE AND EPIDEMIOLOGY
IN THE REPUBLIC OF KARELIA (PETROZAVODSK)

S. V. Bugmyrin, T. B. Poutonen, T. N. Pakhomova , L. A. Bespyatova,
V. E. Chevskaya, N. A. Kocherova

Keywords: *Ixodes ricinus*, *I. persulcatus*, tick-borne encephalitis virus, *Borrelia burgdorferi* s. l., Karelia, activity season

SUMMARY

In 2019 and 2021, species composition of the ticks provided by citizens was studied at the Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Karelia (based in Petrozavodsk). As a result, about 2 500 tick specimens were identified as belonging to the following species of the family Ixodidae: *Ixodes persulcatus* Schulze, 1930, *I. ricinus* (Linnaeus, 1758), *Dermacentor marginatus* (Sulzer, 1776), *D. reticulatus* Fabricius, 1794, *Hyalomma marginatum* Koch, 1844, and *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). For 2% of the ticks, including all species not typically dwelling in Karelia, the attacks occurred outside of Karelia. For districts of Karelia, two species were identified: *I. persulcatus* (approx. 95% of all ticks delivered) and *I. ricinus*. Prevalence of pathogens in ticks as analyzed with the use of a commercial kit «AmpliSense® TBEV, *B. burgdorferi* sl, *A. phagocytophillum*, *E. chaffeensis*/*E. muris* – FL» based on real-time PCR. Prevalence of the tick-borne encephalitis virus in *I. persulcatus* was 1.5%. In *I. ricinus* ticks the virus was absent. The prevalence of the *Borrelia burgdorferi* s. l. and *Ehrlichia* spp. complex constituted 32.5 and 3.3% in *I. persulcatus* versus 16.3 and 0.8% in *I. ricinus*, respectively. A single occurrence of *Anaplasma phagocytophillum* was found in *I. persulcatus* (prevalence – 0.04%). The main determinant of the epidemiological situation in Karelia is the wide distribution and high abundance of *I. persulcatus*.

УДК 576.895.132.2.99

**УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ
КОЖНО-МУСКУЛЬНОГО МЕШКА ГЕЛЬМИНТА
HETERAKIS DISPAR (SCHRANK, 1790)
(NEMATODA, HETERAKIDAE)**

© 2023 г. Ф. Г. Рзаев*

Институт зоологии Министерства науки и образования Азербайджанской Республики,
Баку, ул. А. Аббасзаде, 1128/504, AZ1004 Азербайджан

Азербайджанский медицинский университет,
Баку, ул. С. Вургуня 163, AZ1078 Азербайджан

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

Поступила в редакцию 19.10.2022 г.

После доработки 11.12.2020 г.

Принята к публикации 17.12.2022 г.

С помощью методов световой и электронной микроскопии исследована ультраструктура кожно-мускульного мешка нематоды *Heterakis dispar* (Schränk, 1790) из семейства Heterakidae, а также проведено сравнение строения этого мешка с аналогичным мешком у других видов того же семейства. Кутикула нематоды *H. dispar* состоит из восьми слоев: 1 – эпикутикула; 2, 3 – внешний и внутренний корковые слои; 4, 5 – внешний и внутренний гомогенные слои; 6, 7 – внешний и внутренний волокнистые слои; 8 – базальная мембрана. Гомогенный слой кутикулы в несколько раз толще в латеральных крыльях у обоих полов и вблизи бурсы самца, по сравнению с другими частями кутикулы гельминта. В отличие от других видов семейства, у самцов *H. dispar* кутикула имеет 3 различных типа строения в разных участках тела. В базальном слое кутикулы выявлены трубкообразные структуры, состоящие из плотных фибрилл и микротрубочек. Эти структуры ранее не отмечались у других видов семейства. В гиподерме нематоды прослеживаются дорсальный, вентральный и 2 латеральных валика, причем латеральные валики вдвое крупнее остальных. Также были выявлены ультраструктурные особенности экскреторного канала и нервных стволов, расположенных в гиподермальных валиках. Нервная система гельминта ортогональная. Мускулатура полимиарного типа, число мышечных клеток колеблется от 17 до 26 в зависимости от пола и части тела гельминта.

Ключевые слова: нематода, *Heterakis dispar*, кутикула, гиподерма, мышечный слой, ультраструктура, трансмиссионный электронный микроскоп

DOI: 10.31857/S0031184723010027; **EDN:** FJAUUL

В результате проведенных гельминтологических исследований на территории Азербайджанской Республики у домашних водоплавающих птиц (домашний гусь – *Anser anser domesticus* (L.) и домашняя утка – *Anas platyrhynchos domesticus* (L.)) нами было зарегистрировано 27 видов гельминтов (Seyidbeyli, Rzaev, 2018; Rzaev, 2021a, 2021b; Rzaev et al., 2021), из них 13 видов относятся к классу нематод (Eyvazov, 2022). Из них 3 вида (*Heterakis dispar*, *H. gallinarum*, *H. altaicus*) относятся к семейству Heterakidae. У птиц во всех исследованных районах на территории республики нематода *H. dispar* имеет высокую интенсивность и экстенсивность заражения. Этот гельминт также является специфическим паразитом для данных хозяев. Определение таксономического положения видов, принадлежащих к семейству Heterakidae, по признакам, представленным в определителях, имеет некоторые трудности. Это связано с тем, что виды, входящие в это семейство, морфологически очень схожи. Изучение микроструктуры тканей позволит выявить дополнительные таксономические признаки для идентификации видов паразитов. Проведенный анализ литературных данных показал, что работы по изучению ультраструктуры имеются лишь для нескольких видов нематод (*H. gallinarum*, *H. spumosa*), относящихся к семейству Heterakidae (Lee, 1971, 1973, 1975; Lee, Lestan, 1971; Богоявленский, 1973; Богоявленский и др., 1982; Wright, Hui, 1976; Zmoray, Gutteková, 1987; Bird, Bird, 1991; Mehlhorn, Harder, 1997). При этом эти данные включают в себя сведения об ультраструктуре только некоторых органов изучаемого паразита. У нематоды *H. dispar* полностью изучен митохондриальный геном, в том числе проведена молекулярная идентификация и филогенетический анализ (Bobrek et al., 2019; Gao et al., 2019; Elshahawy et al., 2021). Литературы, посвященной изучению ультраструктур этой нематоды, нами не было выявлено, и имеются только сведения о морфологическом строении нематоды, полученные с использованием светового микроскопа (Насиров и др., 2008). Учитывая все вышесказанное, мы поставили цель – изучить строение кожно-мускульного мешка (кутикула, гиподерма и мышечный слой) нематоды *H. dispar* методами световой и электронной микроскопии, а также провести сравнительный анализ с другими видами того же семейства.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В результате исследований, проведенных методом полного паразитологического вскрытия (Скрябин, 1928; Дубинина, 1971), изучено 12 экз. птиц в возрасте одного года (6 экз. гусей и 6 экз. уток) из частных птицеводческих хозяйств г. Шабран (41°12'18.3" N, 48°59'44.8" E) Азербайджанской Республики. Гельминты были собраны из слепых отростков кишечника. Из собранного материала были приготовлены постоянные препараты, заключенные в канадский бальзам. Паразитов изучали под стереомикроскопом (МБС-9, Россия) и микроскопом Primo Star (Zeiss, Германия). Идентификацию видов паразитов проводили по определителю Рыжикова (1967). Для приготовления полутонких и ультратонких срезов половозрелых нематод (разрезанных на части) фиксировали смесью 2% раствора глутаральдегида, 2% раствора параформальдегида и 0.1% раствора пикриновой кислоты на 0.1M фосфатном буфере (pH = 7.4). Постфиксация проводилась в 1% растворе четырехоксида осмия в течение 1 часа.

Фиксированный материал был залит в Аралдит-Эпон (Kuo, 2014; Yushin et al., 2021). Полутонкие и ультратонкие срезы приготовлены на ультрамикротоме EM UC7 (Leica, США). Полутонкие срезы (1 мкм) окрашивали метиленовым синим, азур II, фуксином (D'Amico, 2005) и просматривали под световым микроскопом Primo Star (Zeiss, Германия). Фотографии получали с помощью цифровой фотокамеры EOS 650D (Canon, Япония). Ультратонкие срезы (50–70 нм) окрашивали 2% насыщенным водным раствором уранилацетата и докрашивали 0.6% раствором чистого цитрата свинца на 0.1 М растворе NaOH. Электронограммы получали на трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1400 (JEOL, Япония) при напряжении 80–120 кВ. Измерения на фотографиях сделаны при помощи программы ITEM-TEM Imaging Platform. Статистические расчеты проводились с помощью программы Microsoft Excel. Анализ данных проводился различным параметрам (Min, Max, mean $\pm$ SD). Данные принимались как статистически значимые при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Кожно-мускульный мешок половозрелой нематоды *H. dispar* (самка и самец) состоит из кутикулы, гиподермы и мышечного слоя (рис. 1A).

Кутикула. Было выявлено, что кутикула нематоды *H. dispar*, имеющая не клеточное строение, состоит из восьми слоев: 1 – эпикутикула, 2 – внешний корковый слой, 3 – внутренний корковый слой, 4 – внешний гомогенный слой, 5 – внутренний гомогенный слой, 6 – внешний волокнистый слой, 7 – внутренний волокнистый слой, 8 – базальная мембрана (рис. 1A). При больших увеличениях электронного микроскопа над эпикутикулой был обнаружен тонкий гликопротеиновый слой (рис. 1B). Измерения толщины слоёв кутикулы паразита были статистически обработаны, результаты представлены в табл. 1. Общая толщина кутикулы нематоды составляет 2.4–2.7 мкм (2.5 ± 0.035 мкм). По всей длине тела у особей обоего пола располагается пара латеральных крыльев, которые имеют кутикулярное происхождение (рис. 1C и 1D). Крылья состоят из коркового, гомогенного и фибриллярного слоев (рис. 1D). Толщина коркового слоя на боковой части крыльев составляет 0.79–1.19 мкм (0.94 ± 0.048 мкм), на кончиках 0.40–0.57 мкм (0.48 ± 0.022 мкм). Гомогенный и фибриллярный слои имеют толщину 1.48–4.19 мкм (2.72 ± 0.33 мкм) и 1.03–3.20 мкм (1.90 ± 0.21 мкм) соответственно. Длина латеральных крыльев составляет 20.3–34.3 мкм (27.3 ± 0.16 мкм). В отличие от кутикулы, гомогенный слой на боковых крыльях выглядит темным и состоит из двух частей (рис. 1D). У самцов, в отличие от самок, боковые крылья более развиты в каудальной части и окружают бурсу (рис. 2A и 2B). При электронномикроскопическом исследовании кутикулярных крыльев вокруг бursy наблюдается структура, сходная с ультраструктурой боковых крыльев. Однако гомогенный слой вокруг бursy в 4 раза толще, чем в гомогенном слое крыльев (толщина 7.29–14.30 мкм (11.34 ± 0.82 мкм)) и не разделен на две части (рис. 2C). У самок внешняя форма кутикулы в передней, средней и задней частях тела одинакова. У самцов, в передней части тела, форма кутикулы гладкая (рис. 2D). В области расположения семенного

мешка на поперечных срезах гельминта прослеживаются углубления, расположенные на одинаковом расстоянии (4 мкм) друг от друга. Эти углубления простираются до гомогенного слоя кутикулы (рис. 2E). В задней части тела, в области расположения спикул, кутикула имеет форму волны (рис. 2F).

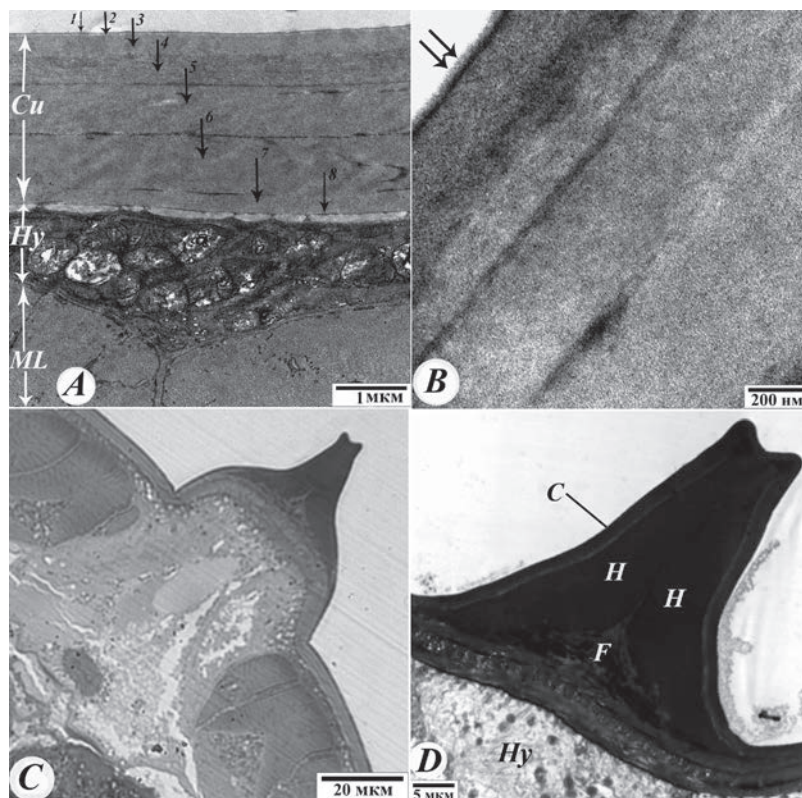


Рисунок 1. Ультраструктура кутикулы нематоды *H. dispar*. A, B, D – электронно-микроскопические фотографии ультратонких поперечных срезов (50–70 нм), окрашенных уранилацетатом и цитратом свинца; C – фотография на световом микроскопе, полутонкий поперечный срез (1 мкм), двухслойное окрашивание методом D’Amico. A – слои кутикулы, B – гликопротеиновый слой, C и D – латеральные крылья. 1 – эпикутикула, 2 – внешний корковый слой, 3 – внутренний корковый слой, 4 – внешний гомогенный слой, 5 – внутренний гомогенный слой, 6 – внешний волокнистый слой, 7 – внутренний волокнистый слой, 8 – базальная мембрана, Cu – кутикула, Hu – гиподерма, ML – мышечный слой, C – корковый слой, H – гомогенный слой, F – фибриллярный слой, двойные черные стрелки – тонкий гликопротеиновый слой.

Figure 1. Ultrastructure of cuticle of the nematode *H. dispar*. A, B, D – electron microscopic photograph of an ultra-thin cross section (50–70 nm) stained by uranyl acetate and lead citrate; C – light microscopic photograph of a semi-thin cross section (1 μm), two-layer staining by D’Amico method. A – layers of cuticle, B – glycoprotein layer, C and D – lateral alae.

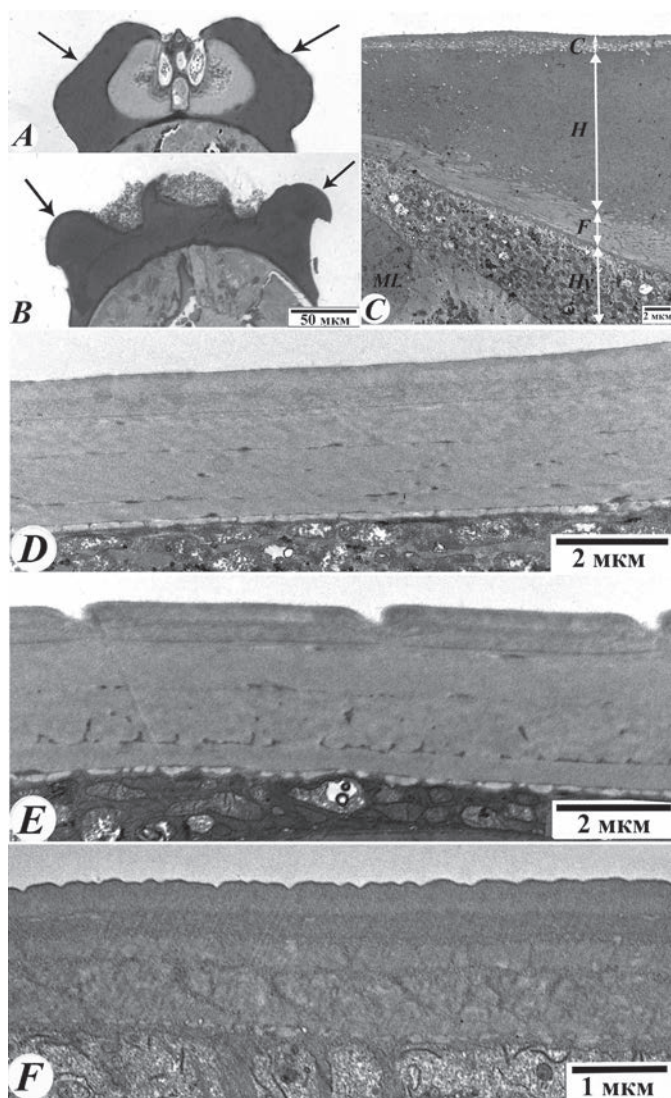


Рисунок 2. Формы кутикулы нематоды *H. dispar*. *A–B* – фотографии на световом микроскопе, полутонкий поперечный срез (1 мкм), двухслойное окрашивание методом D’Amico; *C–F* – электронно-микроскопические фотографии ультратонких поперечных срезов (50–70 нм), окрашенных уранилацетатом и цитратом свинца. *A* и *B* – кутикула вокруг бурсы самца, *C* – однородный слой кутикулы около бурсы, *D* – гладкая форма кутикулы, *E* – кутикула с углублениями (до однородного слоя), *F* – кутикула в форме волны. *C* – корковый слой, *H* – однородный слой, *F* – фибриллярный слой, *Hy* – гиподерма, *ML* – мышечный слой, черные стрелки – боковые крылья бурсы.

Figure 2. Forms of cuticle of the nematode *H. dispar*. *A–B* – light microscopic photograph of a semi-thin cross section (1 μm), two-layer staining by D’Amico method; *C–F* – electron microscopic photograph of an ultra-thin cross section (50–70 nm) stained by uranyl acetate and lead citrate. *A–B* – cuticle around bursae of the male nematode, *C* – homogeneous layer of the cuticle around the bursae, *D* – smooth form of cuticle, *E* – cuticle with depressions (up to a homogeneous layer), *F* – cuticle in wave form.

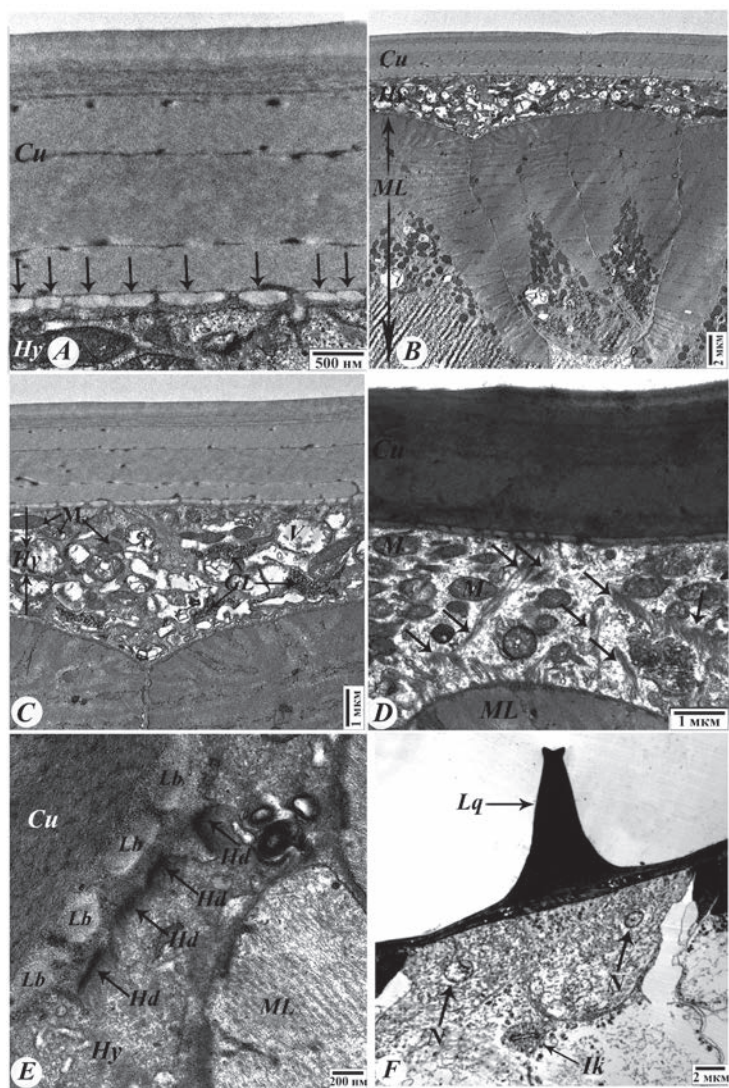


Рисунок 3. Ультраструктура базальной части кутикулы и гиподермы нематоды *H. dispar*. Электронно-микроскопические фотографии ультратонких поперечных срезов (50–70 нм), окрашенных уранилацетатом и цитратом свинца. *A* – трубкообразные структуры в базальной части кутикулы, *B* – кожно-мускульный мешок, в том числе и гиподерма, *C* – органеллы гиподермы, *D* – филаменты в гиподерме, *E* – полудесмосомы между кутикулой и гиподермой, *F* – ядра в валиках. *Cu* – кутикула, *Hy* – гиподерма, *ML* – мышечный слой, *M* – митохондрия, *V* – вакуоль, *GL* – гликоген, *Hd* – полудесмосом, *Lq* – латеральные крылья, *N* – ядро, *Ik* – секреторный канал, *Lb* и черные стрелки (*A*) – трубкообразные структуры, черные стрелки (*D*) – филаменты.

Figure 3. Ultrastructure of basal layer of the cuticle and hypodermis of the nematode *H. dispar*. Electron microscopic photograph of an ultra-thin cross section (50–70 nm) stained by uranyl acetate and lead citrate. *A* – sustaining structures in the basal layer of the cuticle, *B* – body wall, including hypodermis, *C* – organelles of the hypodermis, *D* – filaments in hypodermis, *E* – hemidesmosomes between cuticle and hypodermis, *F* – nucleuses in hypodermal ridges.

Таблица 1. Некоторые статистические расчеты толщины слоев кутикулы нематоды *Heterakis dispar*

Table 1. Some statistical calculations of layers thickness of cuticle from the nematode *Heterakis dispar*

Слой кутикулы		Min, мкм	Max, мкм	$\bar{X} \pm Sx$, мкм
Корковый	Эпикуткула	0.013	0.015	0.014 ± 0.00016
	Внешний корковый	0.019	0.028	0.024 ± 0.0011
	Внутренний корковый	0.254	0.285	0.274 ± 0.003
Гомогенный	Внешний гомогенный	0.393	0.448	0.424 ± 0.007
	Внутренний гомогенный	0.686	0.753	0.708 ± 0.007
Фибриллярный	Внешний волокнистый	0.764	0.841	0.798 ± 0.009
	Внутренний волокнистый	0.205	0.277	0.238 ± 0.008
	Базальная мембрана	0.017	0.022	0.021 ± 0.0007

Для каждого параметра $n = 36$.

В базальном слое кутикулы были выявлены поддерживающие трубкообразные структуры, толщина которых составляла 0.079–0.144 мкм (0.12 ± 0.006 мкм) (рис. 3А). При более высоких увеличениях микроскопа внутри этих трубок также наблюдались фибриллы и микротрубочки.

Гиподерма. Гиподермальный слой нематод располагается между кутикулой и мышечным слоем паразита (рис. 3В). Слой имеет синцитиальное строение. По всей длине гиподерма образует 4 гиподермальных валика, 2 латеральных, 1 дорсальный и 1 вентральный. Толщина латеральных валиков достигает 82.17–84.92 мкм (83.57 ± 0.36 мкм). Дорсальный валик имеет толщину 46.92–48.43 мкм (47.78 ± 0.18 мкм), а вентральный валик не превышает 41.47–44.32 мкм (42.48 ± 0.32 мкм). Дорсальные валики крупнее вентральных, а латеральные почти в два раза больше обоих. Толщина гиподермы, вне гиподермальных валиков, достигает 2.24–4.44 мкм (3.40 ± 0.24 мкм). В гиподерме обнаружены вакуоли, рибосомы, эндоплазматическая сеть и комплексы Гольджи, а также большое количество митохондрий и гликоген (рис. 3С). Кроме того, в гиподерме выявлены многочисленные плотные филаменты (рис. 3Д). Между базальным слоем кутикулы и мембраной гиподермы наблюдались полудесмосомы (рис. 3Е). В гиподермальных валиках обнаруживаются ядра (рис. 3F). В каждом из латеральных валиков отмечено по два ядра, диаметр которых составляет 4.02–6.73 мкм (5.38 ± 0.35 мкм). В дорсальном и вентральных валиках ядра нами не обнаружены. В латеральных валиках наблюдаются гликоген, митохондрии, эндоплазматическая сеть, рибосомы, комплекс Гольджи, микротрубочки, различные типы миофибрилл и вакуоли. Кроме того, в латеральных валиках были выявлены цитоплазматические тельца (inclusion bodies) (рис. 4А и 4В). Цитоплазматические тельца, диаметр которых составляет 0.31–0.61 мкм (0.49 ± 0.042 мкм), были также обнаружены в гиподерме,

находящейся под кутикулярными крыльями вокруг бursы самца. В кутикуле, расположенной на границе с латеральными валиками, наблюдаются отростки базальной мембраны (длина 0.53–0.95 мкм (0.75 ± 0.04 мкм)) (рис. 4А и 4В). При высоких увеличениях микроскопа хорошо видны все три слоя отростков базальной мембраны (рис. 4В). Те же самые отростки были обнаружены в кутикулярных крыльях самцов нематод *H. dispar*. Однако длина их меньше (0.35–0.66 мкм (0.46 ± 0.035 мкм)), чем у вышеуказанных.

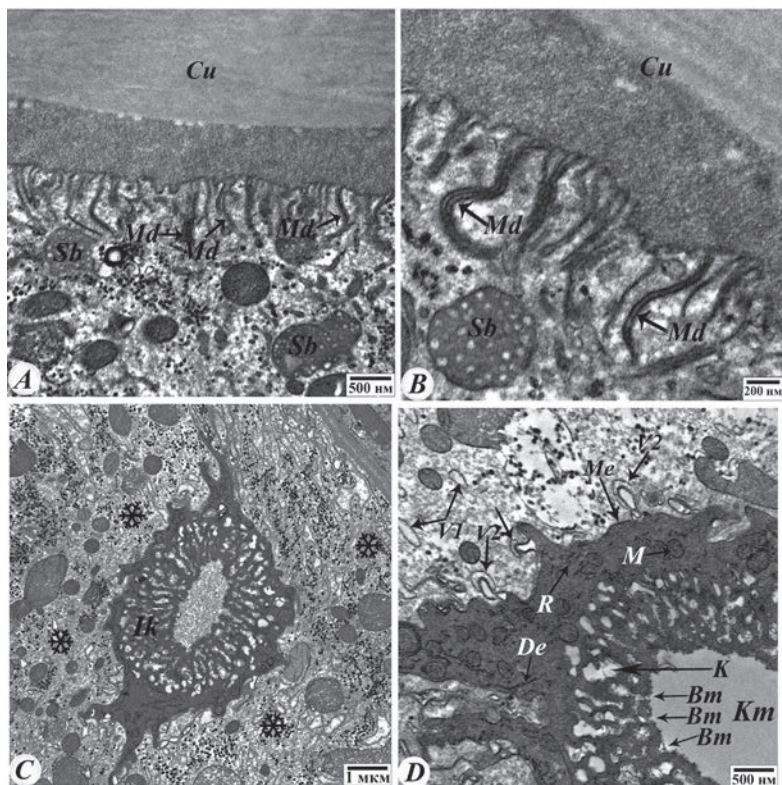


Рисунок 4. Структура отростков базальной мембраны, цитоплазматических телец и экскреторного канала гиподермы нематоды *H. dispar*. Электронно-микроскопические фотографии ультратонких поперечных срезов (50–70 нм), окрашенных уранилацетатом и цитратом свинца. А – общий вид отростков базальной мембраны, цитоплазматических телец, В – те же отростки при увеличении 100 000, С – общий вид экскреторного канала, D – ультраструктура цитоплазмы канала. Cu – кутикула, Sb – цитоплазматические тельца, Md – отростки базальной мембраны, Ik – секреторный канал, R – рибосом, De – гранулярная эндоплазматическая сеть, K – каналы, Km – просвет экскреторного канала, Bm – просвет канальцев, Me – мембрана стенки экскреторного канала, M – митохондрии, V1 – вакуоли в латеральных валиках, V2 – прикрепленные к мембране вакуоли; снежинки (C) – гиподермальный валик.

Figure 4. The structure of basement membrane processes, inclusion bodies, and excretory canal of hypodermis of the nematode *H. dispar*. Electron microscopic photograph of an ultra-thin cross section (50–70 nm) stained by uranyl acetate and lead citrate. A – general view of the basement membrane processes and inclusion bodies, B – same processes at a magnification 100 000, C – general view of the excretory canal, D – ultrastructure of the cytoplasm of canals.

В центре каждого латерального валика расположен трубчатый экскреторный канал, который имеет клеточное строение и диаметр которого достигает 2.61–4.20 мкм (3.58 ± 0.20 мкм). Его цитоплазма содержит различные органеллы – рибосомы, гранулярную эндоплазматическую сеть, митохондрии, вакуоли и каналы (рис. 4С и 4D). В мембране клетки имеются поры. Прослеживается процесс выведения продуктов обмена с участием вакуолей, расположенных в латеральных валиках. Вакуоли приближаются к мембране секреторного канала, их содержимое попадают в цитоплазму стенки экскреторного канала через отверстия (поры) мембраны путем эндоцитоза (рис. 4D). Из цитоплазмы выделенные вещества переходят в каналы, которые находятся в толще стенки экскреторного протока. Эти каналы открываются в просвет экскреторного канала (рис. 4D). Попавшие в этот просвет продукты обмена удаляются из организма посредством протока, расположенного в передней части гельминта.

Нервная система нематоды *H. dispar* ортогональная, состоит из нервного кольца и отделяющихся от него нервных стволов. Эти стволы расположены в дорсальных и вентральных валиках. Нервные стволы соединяются между собой множеством комиссур. Комиссуры имеют форму полуколец. Дорсальный ствол иннервирует мышечные клетки спинной части, а вентральный ствол – брюшную часть тела паразита. Нервные клетки иннервируют также стенки органов пищеварения и размножения. Вентральный ствол толще, чем спинной. Общий вид вентрального и дорсального гиподермальных валиков показан на рис. 5А и 5С, а структура нервных стволов представлена на рис. 5В и 5D. В центральной части вентрального и дорсального валиков отчетливо видны отростки нервных клеток – дендриты и аксоны. Аксоны содержат микротрубочки и нейрофиламенты. В дендритах, кроме выше указанных структур, обнаруживаются митохондрии, а также гликоген (рис. 5В и 5D).

Мышечный слой. Являясь третьим слоем кожно-мускульного мешка, располагается между гиподермой и стенкой первичной полости тела. Мышечный слой паразита развит хорошо. Его толщина достигает 21.28–27.28 мкм (24.54 ± 0.62 мкм). Посредством гиподермальных валиков мышечный слой разделен на 4 части. Установлено, что количество мышечных клеток между валиками у нематоды *H. dispar* колеблется от 17 до 26 в зависимости от пола и части тела гельминта. Мышечный слой нематоды *H. dispar* относится к полимиарному типу. Мышечные клетки образованы из трех частей – саркомера (диаметр 7.02–18.16 мкм (12.83 ± 1.37 мкм)), саркоплазмы (диаметр 5.65–15.34 мкм (10.91 ± 1.28 мкм)) и цитоплазматических отростков (рис. 6А). В центре саркоплазмы расположено большое ядро. Его продольная ось достигает 4.66–6.33 мкм (5.54 ± 0.19 мкм). Цитоплазматические отростки мышечных клеток направлены в сторону нервных пучков, которые расположены в вентральных и дорсальных гиподермальных валиках (рис. 6В). В цитоплазме этих отростков наблюдаются митохондрии, вакуоли и большое количество гликогена (рис. 6В). Мышечный слой отделяет от гиподермы базальная мембрана. Ее толщина равна 0.037–0.065 мкм (0.049 ± 0.003 мкм). Сократимая часть мышечной клетки состоит из двух крупных фибриллярных стволов

(рис. 6C). Стволы, в свою очередь, разделяются на многочисленные продольные фибриллярные пучки (рис. 6D). Между фибриллярными волокнами располагаются темные тельца (dense bodies). Их диаметр составляет $0.091\text{--}0.17\text{ мкм}$ ($0.14 \pm 0.01\text{ мкм}$). Фибриллярные пучки делятся на толстые (диаметр $0.019\text{--}0.024\text{ мкм}$ ($0.022 \pm 0.0005\text{ мкм}$)) и тонкие (диаметр $0.004\text{--}0.006\text{ мкм}$ ($0.005 \pm 0.0002\text{ мкм}$)) филаменты (рис. 6E). В цитоплазме саркоплазмы также наблюдаются митохондрии, гликоген и вакуоли (рис. 6F). При высоком разрешении электронного микроскопа в сократимой части мышечных клеток было выявлено небольшое количество митохондрий (рис. 6D).

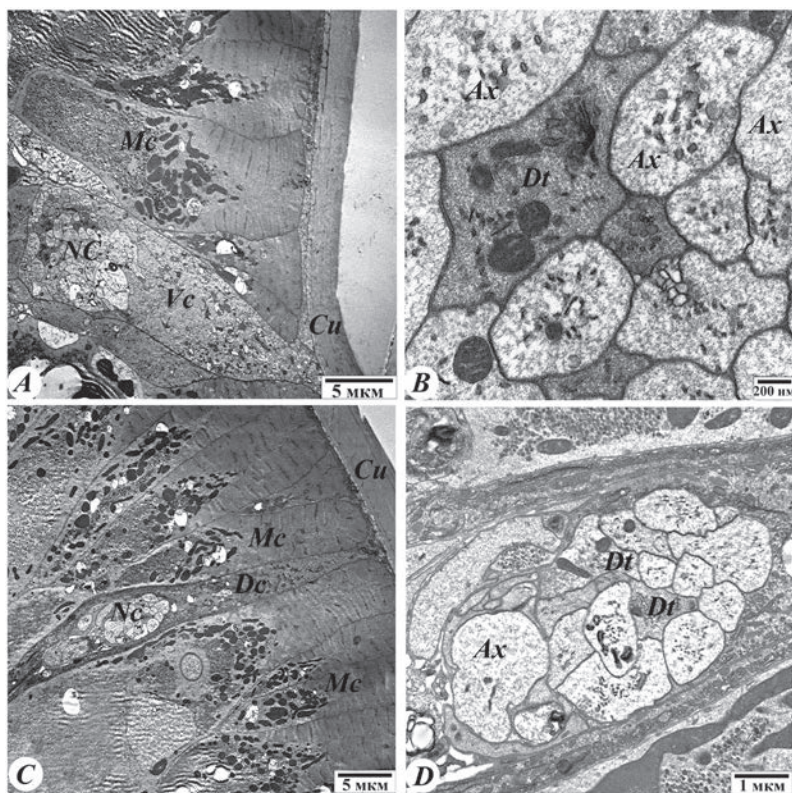


Рисунок 5. Ультраструктурные особенности нервных стволов нематоды *H. dispar*. Электронно-микроскопические фотографии ультратонких поперечных срезов (50–70 нм), окрашенных уранилацетатом и цитратом свинца. А – общий вид вентрального нервного ствола, В – ультраструктура нервных клеток вентрального ствола, С – общий вид дорсального нервного ствола, D – ультраструктура нервных клеток дорсального ствола. Mc – мышечные клетки, Ax – аксон, Dt – дендрит, Cu – кутикула, NC – нервный ствол, Vc – вентральный валик, Dc – дорсальный валик.

Figure 5. Ultrastructural features of nerve cords of the nematode *H. dispar*. Electron microscopic photograph of an ultra-thin cross section (50–70 nm) stained by uranyl acetate and lead citrate. A – general view of ventral nerve cord, B – ultrastructure of nerve cells of the ventral cord, C – general view of dorsal cord, D – ultrastructure of nerve cells of the dorsal cord.

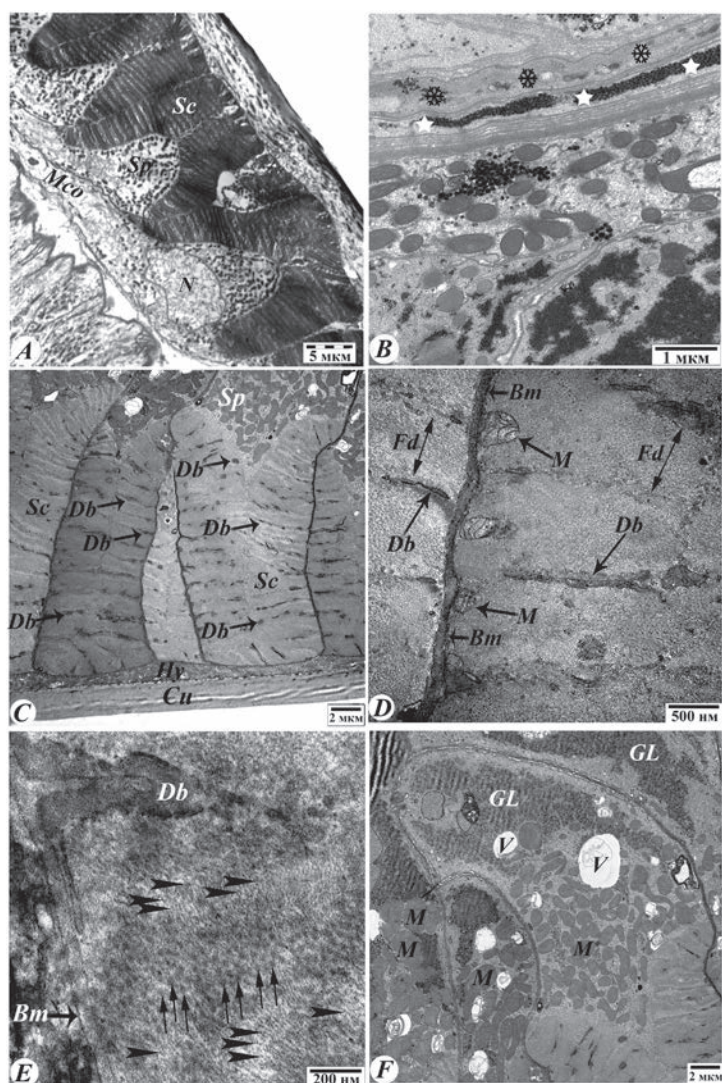


Рисунок 6. Строение мышечных клеток нематоды *H. dispar*. Электронно-микроскопические фотографии ультратонких поперечных срезов (50–70 нм), окрашенных уранилацетатом и цитратом свинца. *A* – общий вид мышечной клетки, *B* – электронограмма цитоплазматического отростка мышечных клеток, *C* – общий вид саркомера, *D* – строение саркомера, *E* – тонкие и толстые филаменты, *F* – структура саркоплазмы. *Sc* – саркомер, *Sp* – саркоплазма, *Mco* и звезда (*B*) – цитоплазматические отростки мышечных клеток, *N* – ядро, *Cu* – кутикула, *Hy* – гиподерма, *Bm* – базальная мембрана, *Db* – темные тельца, *V* – вакуоль, *M* – митохондрия, *GL* – гликоген, *Fd* – фибриллярные пучки, стрелка (*E*) – толстые филаменты, голова стрелы (*E*) – тонкие филаменты, снежинка (*B*) – отросток нервной клетки.

Figure 6. The structure of muscle cells of the nematode *H. dispar*. Electron microscopic photograph of an ultra-thin cross section (50–70 nm) stained by uranyl acetate and lead citrate. *A* – general view of muscle cell, *B* – electronogram of the muscle arms, *C* – general view of the sarcomere, *D* – structure of the sarcomere, *E* – thin and thick filaments, *F* – structure of the sarcoplasm.

В доступной нам литературе имеются данные о некоторых микроморфологических особенностях кожно-мышечного мешка паразитических червей двух видов *H. gallinarum* (Martini, 1909; Богоявленский, Дрыночкина, 1968; Богоявленский, 1973) и *H. spumosa* (Шарипова, 1972; Mehlhorn, Harder, 1997), относящихся к семейству Heterakidae. Из них нематода *H. spumosa* частично изучена с использованием электронного микроскопа (Mehlhorn, Harder, 1997). Все вышеуказанные авторы отмечали, что кожно-мышечный мешок исследованных нематод состоит из кутикулы, гиподермы и мышечного слоя. У нематоды *H. dispar*, изученной нами впервые на ультраструктурном уровне и относящейся к тому же семейству, кожно-мышечный мешок также состоит из указанных слоев (рис. 1А, 3В). В кутикуле нематоды *H. dispar* нами было выявлено восемь слоев. То же количество слоев кутикулы было обнаружено ранее у другого вида этого же рода, *H. gallinarum* (Богоявленский, 1973). В результате анализа полученных нами статистических данных (табл. 1) для нематоды *H. dispar* установлено, что корковый слой составляет 12.4%, гомогенный слой – 45.3%, а фибриллярный слой – 42.3% от общей толщины кутикулы. У свободноживущих почвенных нематод (*Caenorhabditis elegans*) эпикутикулу снаружи покрывает гликокаликс (гликопротеин) (Page, Johnstone, 2007; Cox et al., 1981). В наших исследованиях над эпикутикулой гельминта *H. dispar* на больших увеличениях микроскопа (>100000) также был прослежен гликокаликс (рис. 1В). В литературе сведения о поверхностном покрытии кутикулы гликопротеином у видов, относящихся к семейству Heterakidae, нами не обнаружены. Эти данные по семейству приводятся впервые. Имеются данные о том, что строение и форма кутикулы могут быть различными у взрослых особей и личиночных стадий, самцов и самок или в разных частях тела одной и той же особи. Подобные различия ранее наблюдались нами при изучении ультраструктуры кожно-мышечного мешка нематоды *Trichostrongylus tenuis* (Mehlis, 1846), относящейся к другому семейству (Trichostrongylidae) (Сеидбейли и др., 2020; Рзаев и др., 2020). По форме и структуре кутикулы 4-я личиночная стадия нематоды *T. tenuis* сильно отличалась от половозрелой формы. В другом нашем исследовании установлено, что нематода *T. tenuis* имеет 4 различные формы кутикулярных крыльев (Рзаев и др., 2020). Подобные различия в строении кутикулы, отмеченные выше, обнаружены нами у самцов нематоды *H. dispar*. Так, в передней части тела паразита кутикула гладкая, а в средней находятся углубления, которые располагаются на одинаковом расстоянии друг от друга. В задней части тела кутикула имеет форму волны (рис. 2D–2F). Эти различия не обнаружены у самок нематоды *H. dispar*. Другой отличительной чертой кутикулы является то, что ее гомогенный слой в латеральных крыльях нематоды *H. dispar* толще, чем в других частях кутикулы паразита. При этом в базальном слое кутикулы отмечено наличие трубкообразных структур (рис. 3А). Согласно результатам анализа литературных данных, похожие поддерживающие структуры (sustaining structures) выявлены также у нематоды *Procamallanus (Spirocamallanus) halitrophus*

(Nematoda: Camallanidae) (Cardenas et al., 2005). По данным авторов, поддерживающие структуры имеют округлую или удлинённую форму (Cardenas et al., 2005). Эти же структуры, которые называются «распорками» и которые соединяют внутреннюю кору с волокнистым слоем, присутствуют в промежуточном слое *C. elegans*. Авторы считают, что они способствуют равномерному распределению сил в кутикуле (Peixoto et al., 1997). Эти структуры впервые выявлены у нематод семейства Heterakidae.

Микроморфологические особенности строения гиподермы нематод семейства Heterakidae изучены слабо. Имеется лишь несколько работ, посвящённых этой теме (Богоявленский, 1973; Mehlhorn, Harder, 1997; Насиров и др., 2008). В литературе отмечается, что между базальным слоем кутикулы и мембраной гиподермы прослеживаются полудесмосомы (Bird, Bird, 1991). Эта же информация была подтверждена в работе других авторов (Neuhaus et al., 1996). Мы тоже наблюдали эти структуры у нематоды *H. dispar* на больших увеличениях электронного микроскопа (рис. 3E). Имеются также литературные сведения о расположении ядер в латеральных валиках (Frantova et al., 2005). В других источниках имеются сведения о наличии одного-двух крупных или же нескольких мелких ядер (у нематоды *H. gallinarum*) в гиподермальных валиках (Богоявленский, 1973). Согласно результатам наших исследований, у нематоды *H. dispar* в каждом боковом латеральном валике находится по два ядра (рис. 3F). Цитоплазматические тельца (рис. 4A, 4B), обнаруженные в гиподерме нематоды *H. dispar*, представляют собой темные шаровидные белковые образования различных размеров. По данным некоторых авторов, эти образования формируются в результате экспрессии рекомбинантных белков (Cardenas et al., 2005). Ранее белки цитоплазматических телец обнаружены в клетках нейронов, различных тканевых клетках, и в том числе в эритроцитах, бактериях, вирусах и растениях (Singhvi, Panda, 2022; Hashemzadeh et al., 2021). Цитоплазматические тельца были обнаружены и у гельминтов *P. (S.) halitrophus*, относящегося к семейству Camallanidae, и *Ascaridia suum*, относящегося к семейству Ascaridiidae. Цитоплазматические тельца отмечались в латеральных валиках, в т.ч. среди фибрилл, в цитоплазме мышечных клеток мышечного слоя, вокруг эндоплазматических сетей и микротрубочек кишечной клетки (Cardenas et al., 2005). Мы не нашли сведений об отростках базальной мембраны на границе кутикулы и гиподермы у других видов нематод, принадлежащих к семейству Heterakidae (рис. 4A и 4B). Но имеются данные о нахождении этих же отростков у нематоды *Wuchereria bancrofti*, которая относится к семейству Onchocercidae и паразитирует у человека (Oliveira-Menezes et al., 2010). По нашему мнению, такая направленность базальной мембраны в сторону гиподермы во много раз увеличивает площадь контакта кутикулы с гиподермой и придает им прочность.

Нами обнаружено, что через центральную часть каждого из латеральных валиков гиподермы гельминта проходит экскреторный канал. Есть подробные сведения об ультраструктурном строении выводных каналов нематод *Cystidicoloides ephemeridarum*,

Trichostrongylus colubriformis, *Haemonchus placei*, *Nematodirus battus* (Frantova, Moravec, 2003; Smith, Harness, 1972; Martin, Lee, 1983). Имеются также краткие сведения об ультраструктуре экскреторных каналов нематоды *H. spumosa*, относящейся к семейству Heterakidae (Mehlhorn, Harder, 1997). Анализ собственных и литературных данных показал, что морфометрические показатели выводного канала нематоды вида *H. dispar* соответствуют таковым нематоды вида *H. spumosa*, но меньше, чем у других исследованных видов (*C. ephemeridarum*, *T. colubriformis*, *H. placei*, *N. battus*), относящихся к другим семействам.

Ультраструктурное строение нервных стволов, находящихся в дорсальном и вентральном гиподермальных валиках, ранее изучено у нематод *C. ephemeridarum*, *P. halitrophus*, *T. colubriformis* и *H. placei* (Smith, Harness, 1972; Frantova, Moravec, 2003; Cardenas et al., 2005), а также у нематоды *H. spumosa*, относящейся к семейству Heterakidae (Mehlhorn, Harder, 1997). Наши данные о структуре нервных стволов *H. dispar* соответствуют ранее полученным данным.

Исследования показали, что мышечная система *H. dispar* состоит из соматических мышечных клеток. По данным некоторых авторов, между гиподермой и мышечными клетками имеется базальная пластинка (basal lamina) (Cardenas et al., 2005). В то же время в работах других исследователей сообщается о наличии в этой области базальной мембраны (Bird, Bird, 1991; Lecroisey et al., 2007). Мы считаем, что у нематоды *H. dispar* между гиподермой и мускульным слоем располагается базальная мембрана. Обычно мышечные клетки большинства видов нематод состоят из трех частей – сократимой, плазматической и мышечных отростков. Имеются данные об отсутствии отростков у некоторых видов нематод (Богоявленский, 1973; Сеидбейли и др., 2020; Рзаев и др., 2020). Среди нематод, принадлежащих к семейству Heterakidae, отростки имеют *H. gallinarum* и *H. spumosa* (Mehlhorn, Harder, 1997; Богоявленский, 1973). Нами также были обнаружены отростки мышечных клеток у нематоды *H. dispar*. Анализ литературных (Богоявленский, 1973; Mehlhorn, Harder, 1997) и собственных данных показал, что все исследованные виды нематод, входящие в семейство Heterakidae, в том числе и нематода *H. dispar*, имеют полимиарный тип мышечного слоя.

ВЫВОДЫ

Установлено, что кутикула нематоды *H. dispar* состоит из восьми слоев. Гомогенный слой в латеральных крыльях, как у самцов, так и у самок состоит из двух частей и значительно толще других слоев. В отличие от самок, у самцов форма кутикулы на передней части тела гладкая, в средней части заметны углубления, расположенные на одинаковом расстоянии одно от другого и направленные внутрь (до гомогенного слоя) кутикулы. В задней части тела кутикула имеет форму волны. В базальном слое кутикулы выявлены трубкообразные структуры, которые состоят из плотных фибрилл и микротрубочек и которые ранее не были обнаружены у изученных видов семей-

ства Heterakidae. Дорсальный гиподермальный валик нематоды крупнее вентрального, а латеральные почти в два раза больше вышеупомянутых. Выявлены ультраструктурные особенности экскреторного канала, расположенного в центре латеральных валиков. Нервная система гельминта ортогональная, состоит из узловатого кольца и нервных стволов. Вентральный ствол по толщине больше, чем спинной. Мышечный слой нематоды *H. dispar* относится к полимиарному типу, число мышечных клеток колеблется от 17 до 26 в зависимости от пола и части тела гельминта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Богоявленский Ю.К. 1973. Структура и функции покровных тканей паразитических нематод. Москва, Наука, 205 с. [Bogoyavlensky Yu.K. 1973. Structure and functions of integumentary tissues of parasitic nematodes. Moscow, Nauka, 205 pp. (in Russian)].
- Богоявленский Ю.К., Боголепова И.И., Онушко Н.В. 1982. Микроструктура тканей паразитических нематод. Москва, Наука, 277 с. [Bogoyavlensky Yu.K., Bogolepova I.I., Onushko N.V. 1982. Microstructure of tissues of parasitic nematodes. Moscow, Nauka, 277 pp. (in Russian)].
- Богоявленский Ю.К., Дрыночкина З.В. 1968. Сравнительно-гистологическое изучение кожно-мышечного мешка некоторых оксиурат. Материалы к научной конференции ВОГ. М., ч. 1, 38–44. [Bogoyavlensky Yu.K., Drynochkina Z.V. 1968. Comparative histological study of the body wall of some oxyurates. Materials for the scientific conference VOG. Moscow, Vol. 1, 38–44. (in Russian)].
- Дубинина М.Н. 1971. Паразитологическое исследование птиц. Методы паразитологических исследований. Ленинград, Наука, 140 с. [Dubinina M.N. 1971. Parasitological study of birds. Methods of parasitological research. Leningrad, Nauka, 140 pp. (in Russian)].
- Насиров А.М., Бунятова К.И., Казиева Н.Ш., Рзаев Ф.Г. 2008. Микроморфология тканей нематоды *Ganguleterakis dispar* (Schrunk, 1790). Материалы IV Всероссийского Съезда Паразитологического общества при РАН, «Паразитология в XXI веке – проблемы, методы, решения». Т. 2. Санкт-Петербург: Лемма, 208–210. [Nasirov A.M., Bunyatova K.I., Kazieva N.Sh., Rzaev F.H. 2008. Micromorphology of tissues of the nematode *Ganguleterakis dispar* (Schrunk, 1790). Materials of the IV All-Russian Congress of the Parasitological Society at the Russian Academy of Sciences, “Parasitology in the XXI century – problems, methods, solutions”. Vol. 2. StP.: Lemma, 208–210. (in Russian)].
- Рзаев Ф.Г., Сеидбейли М.И., Магяррамов С.Г., Гасымов Э.К. 2020. Формы и ультраструктурные особенности латеральных крыльев гельминта *Trichostrongylus tenuis* Mehlis, 1846 (Nematoda: Trichostrongylidae). Вестник Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина 34: 112–119. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2020-34-12> [Rzaev F.H., Seyidbeyli M.I., Maharramov S.H., Gasimov E.K. Forms and ultrastructural features of the lateral alae of the helminth *Trichostrongylus tenuis* Mehlis, 1846 (Nematoda: Trichostrongylidae). The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University 34: 112–119. (in Russian)]. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2020-34-12>
- Рыжиков К.М. 1967. Определитель гельминтов домашних водоплавающих птиц. Москва, Наука, 262 с. [Ryzhikov K.M. 1967. Key to helminths of domestic waterfowl. Moscow, Nauka, 262 pp. (in Russian)].
- Скрябин К.И. 1928. Метод полевых гельминтологических вскрытий позвоночных, включая человека. Москва, Московский государственный университет, 46 с. [Skryabin K.I. 1928. Method of field helminthological dissections of vertebrates, including humans. Moscow, Moscow State University, 46 pp. (in Russian)].
- Сеидбейли М.И., Рзаев Ф.Г., Гасымов Э.К. 2020. Ультраструктурные особенности кожно-мышечного мешка гельминта *Trichostrongylus tenuis* (Mehlis, 1846) (Nematoda: Trichostrongylidae). Паразитология 54 (5): 402–412. DOI: 10.31857/S123456780605003X [Seyidbeyli M.I., Rzaev F.H., Gasimov E.K. 2020. Ultrastructural features of the body wall of the helminth *Trichostrongylus tenuis* (Mehlis, 1846) (Nematoda: Trichostrongylidae). Parazitologiya 54 (5): 402–412. (in Russian)] doi: 10.31857/S123456780605003X

- Шарипова А.А. 1972. Микроморфологическое исследование покровных тканей и соматической мускулатуры нематоды *Ganguleterakis spumosa* (Schneider, 1866). Материалы конференции по микроморфологии гельминтов. Кемерово, 87–89. [Sharipova A.A. 1972. Micromorphological study of integumentary tissues and somatic muscles of the nematode *Ganguleterakis spumosa* (Schneider, 1866). Materials of the conference on the micromorphology of helminths. Kemerovo, 87–89. (in Russian)].
- Bird F.A., Bird J. 1991. The structure of Nematodes. 2nd edition. Academic Press, San Diego, 316 pp.
- Bobrek K., Hildebrand J., Urbanowicz J., Aweł A. 2019. Molecular identification and phylogenetic analysis of *Heterakis dispar* isolated from Geese. *Acta Parasitologica* 64: 753–760. <https://doi.org/10.2478/s11686-019-00112-1>
- Cardenas M.Q., Souza D.W., Lanfredi R.M. 2005. Ultrastructure of *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *halitrophus* (Nematoda: Camallanidae) parasite of flounder. *Parasitol Research* 97: 478–485. doi: 10.1007/s00436-005-1477-5
- Cox G.N., Kusch M., Edgar R.S. 1981. Cuticle of *Caenorhabditis elegans*: its isolation and partial characterisation. *Journal of Cell Biology* 90: 7–17. doi: 10.1083/jcb.90.1.7
- D'Amico F. 2005. A polychromatic staining method for epoxy embedded tissue: a new combination of methylene blue and basic fuchsin for light microscopy. *Biotechnic Histochemistry* 80 (5–6): 207–210. doi: 10.1080/10520290600560897
- Elshahawy I., El-Siefy M., Fawy S., Mohammed E. 2021. Epidemiological Studies on Nematode Parasites of Domestic Geese (*Anser anser f. domesticus*) and First Molecular Identification and Phylogenetic Analysis of *Heterakis dispar* (Schrank, 1790) in Egypt. *Acta Parasitologica*. <https://doi.org/10.1007/s11686-021-00407-2>
- Eyvazov A. (ed.) 2022. Taxonomic spectrum of the Azerbaijan fauna. Protozoa and helminths. Baku, Institute of Zoology, 141 pp. (in Azerbaijanian).
- Frantova D., Brunanska M., Fagerholm H., Kihlström M. 2005. Ultrastructure of the body wall of female *Philotmetra obturans* (Nematoda: Dracunculoidea). *Parasitology Research* 95: 327–332. doi: 10.1007/s00436-004-1294-2
- Frantova D., Moravec F. 2003. Ultrastructure of the body wall of *Cystidicoloides ephemeridarum* (Nematoda, Cystidicolidae) in relation to the histopathology of this nematode in salmonids. *Parasitology Research* 91: 100–108. doi: 10.1007/s00436-003-0935-1
- Gao J.F., Hou M.R., Wang W.F., Gao Z.Y., Zhang X.G., Lu Y.X., Shi T.R. 2019. The complete mitochondrial genome of *Heterakis dispar* (Ascaridida: Heterakidae). *Mitochondrial DNA part B* 4 (1): 1630–1631. <https://doi.org/10.1080/23802359.2019.1574627>
- Hashemzadeh S.M., Mohammadi M., Ghaleh H.E.G., Sharti M., Chooapani A., Panda A.K. 2021. Expression, Solubilization, Refolding and Final Purification of Recombinant Proteins as Expressed in the form of “Classical Inclusion Bodies” in *E. coli*. *Protein and Peptide Letters* 28 (2): 122–130. doi: 10.2174/0929866527999200729182831
- Kuo J. 2014. Electron microscopy: methods and protocols. Totowa, Humana Press, 799 pp. doi: 10.1007/978-1-62703-776-1
- Lecroisey C., Segalat L., Gieseler K. 2007. The *C. elegans* dense body: anchoring and signaling structure of the muscle. *Journal of Muscle Research and Cell Motility* 28: 79–87. doi: 10.1007/s10974-007-9104-y
- Lee D.L. 1971. The structure and development of the spermatozoon of *Heterakis gallinarum* (Nematoda). *Journal of Zoology* 164: 181–188. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1971.tb01304.x>
- Lee D.L. 1973. Evidence for a sensory function for the copulatory spicules of nematodes. *Journal of Zoology* 169: 281–285. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1973.tb04557.x>
- Lee D.L. 1975. Structure and function of the intestinal-cloacal junction of the nematode *Heterakis gallinarum*. *Parasitology* 70: 389–396. doi: 10.1017/S0031182000052161
- Lee D.L., Lestan P. 1971. Oogenesis and egg shell formation in *Heterakis gallinarum* (Nematoda). *Journal of Zoology, London* 164: 189–196. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1971.tb01305.x>
- Martin J., Lee D.L. 1983. *Nematodirus battus*: structure of the body wall of the adult. *Parasitology* 86: 481–488. doi: 10.1017/s0031182000050678

- Martini E. 1909. Über Subcuticula und Seitenfelder einiger Nematoden. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie* 93: 535–622.
- Mehlhorn H., Harder A. 1997. Effects of the synergistic action of febantel and pyrantel on the nematode *Heterakis spumosa*: a light and transmission electron microscopy study. *Parasitology Research* 83: 419–434. doi: 10.1007/s004360050275
- Neuhauser B., Brescianini J., Christensen Ch.M., Frandsen F. 1996. Ultrastructure and Development of the Body Cuticle of *Oesophagostomum dentatum* (Strongylida, Nematoda). *The Journal of Parasitology* 82 (5): 820–828. <https://doi.org/10.2307/3283897>
- Oliveira-Menezes A., Noroës J., Dreyer G., Lanfredi R. 2010. Ultrastructural analysis of *Wuchereria bancrofti* (Nematoda: Filarioidea) body wall. *Micron* 41:526–531. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2010.01.007>
- Page A.P., Johnstone I.L. 2007. The cuticle, *WormBook*, ed. The *C. elegans* Research Community, *WormBook*, doi/10.1895/wormbook.1.138.1
- Peixoto C.A., Kramer J.M., De Souza W. 1997. *Caenorhabditis elegans* cuticle: a description of new elements of the fibrous layer. *Journal of Parasitology* 83: 368–372. <https://doi.org/10.2307/3284396>
- Rzayev F.H. 2021a. Cestodes (Plathelminthes: Cestoda) of domestic waterfowl. *Advances in Biology & Earth Sciences* 6 (2): 133–141.
- Rzayev F.H. 2021b. A systematic review of flukes (Plathelminthes: Trematoda) of domestic goose (*Anser anser* dom). *Biosystems Diversity* 29 (3): 294–302. doi: 10.15421/012137
- Rzayev F.H., Nasirov A.M., Gasimov E.K. 2021. A systematic review of tapeworms (Plathelminthes, Cestoda) of domestic ducks (*Anas platyrhynchos* dom). *Regulatory Mechanisms in Biosystems* 12 (2): 353–361. doi: 10.15421/022148
- Seyidbeyli M.I., Rzayev F.H. 2018. Systematical review of helminth fauna of waterfowl poultry in the territory of Babek region of Nakhchivan AR. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 6 (1): 1668–1671.
- Singhvi P., Panda A.K. 2022. Solubilization and Refolding of Inclusion Body Proteins. *Methods in Molecular Biology* 2406: 371–387. doi: 10.1007/978-1-0716-1859-2_22
- Smith K., Harness E. 1972. The ultrastructure of the adult stage of *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus placei*. *Parasitology* 64: 173–179. doi: 10.1017/S0031182000029590
- Yushin V.V., Claeys M., Leunissen J.L.M., Zograf J.K. 2021. *Electron Microscopy Techniques. Techniques for work with plant and soil nematodes*. Boston, CABI, 230 pp. doi: 10.1079/9781786391759.0008
- Wright K.A., Hui N. 1976. Post-labial sensory structures on the cecal worm, *Heterakis gallinarum*. *The Journal of Parasitology* 62 (4): 579–584. <https://doi.org/10.2307/3279422>
- Zmoray I., Guttekova A. 1987. Ultrastructure of intestinal cells of *Heterakis gallinarum*. *Angewandte Parasitologie* 19 (2): 106–111.

ULTRASTRUCTURAL FEATURES OF THE BODY WALL OF THE HELMINTH *HETERAKIS DISPAR* (SCHRANK, 1790) (NEMATODA, HETERAKIDAE)

F. H. Rzayev

Keywords: nematodes, *Heterakis dispar*; cuticle, hypodermis, muscle layer; ultrastructure, transmission electron microscope

SUMMARY

The structure of the body wall (cuticle, hypoderm, and muscle layer) of the nematode *Heterakis dispar* (Schränk, 1790) from the family Heterakidae was studied using light and electron microscopy methods and compared with other species of the same family. The cuticle of the adult nematode *H. dispar* consists of 8 layers: 1 – an outer membrane layer or epicuticle; 2, 3 – outer and inner cortical layers; 4, 5 – outer and inner homogeneous or middle layers; 6, 7 – outer and inner fibrous

or fibrillar layers; 8 – basement membrane. The cortical, homogeneous and fibrillary layers constitute 12.4, 45.3 and 42.3% of the all cuticle, respectively. The homogeneous layer of the cuticle in the lateral ridges in both male and female and near the bursa of the male is several times as thick as other parts of the helminth cuticle. Unlike other species of the family, males of *H. dispar* possess 3 different forms of cuticular structure in different parts of the body. In the basal layer of the cuticle, sustaining structures consisting of dense fibrils and microtubules were found, which were not previously noted in other species of the family. It is likely that they provide strength to the body wall of the helminth. In the hypodermis of the nematode, dorsal, ventral, and 2 lateral ridges are traced, the lateral ridges being twice as large as others. Ultrastructural features of the excretory channels and nerve cords located in the hypodermal ridges, were also revealed. The nervous system of the helminth is orthogonal. The ventral nerve cord is wider than the dorsal one. Muscle layer is of the polymyax type, number of muscle cells arranged in groups varies from 17 to 26, depending on the sex and body part of the helminth.

УДК 576.895.121.56 / 599.742.11

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ESCHINOCOCCUS CANADENSIS (CESTODA, TAENIIDAE)
ОТ ВОЛКА ИЗ КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

**© 2023 г. О. А. Логинова^{а,*}, С. Э. Спиридонов^а,
О. В. Масленникова^б, Л. А. Букина^б**

^аФГБУН «Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН»,
Ленинский просп., 33, Москва, 119071 Россия

^бФГБОУ ВО «Вятский государственный агротехнологический университет»,
Октябрьский просп., 133, Киров, 610017 Россия

*e-mail: loginova_spb@bk.ru

Поступила в редакцию 13.12.2022 г.

После доработки 19.01.2023 г.

Принята к публикации 21.01.2023 г.

Представлены результаты изучения молекулярной характеристики паразитических ленточных червей *Echinococcus canadensis*. Гельминты были обнаружены при вскрытии волка (*Canis lupus* Linnaeus, 1758), добытого охотниками в Кировской области в 2021 г. Молекулярно-филогенетическое исследование проводили путем анализа последовательности фрагмента первой субъединицы митохондриального гена цитохромоксидазы (*CoxI*). Установили, что обнаруженные эхинококки относятся к генотипу G10 *E. canadensis*, обычному для волков на северных территориях Голарктики. Обнаружены четыре позиции, по которым выявляются характерные только для этого генотипа замены. Обнаружена также замена по одной из позиций, которая характерна исключительно для представителей генотипа G10, обнаруженных в России и Финляндии.

Ключевые слова: эхинококк, *Echinococcus canadensis*, G10, волк, Кировская область

DOI: 10.31857/S0031184723010039; **EDN:** FJCPFX

Паразитические ленточные черви рода *Echinococcus* Rudolphi, 1801 известны человечеству еще со времен Гиппократ, Аретей и Галена (Beaver et al., 1984). Однако даже в XXI столетии в изучении эхинококков остается много нерешенных вопросов. Например, все еще нет полного понимания и единства мнений относительно систематического положения видов этого рода. Известен список из девяти валидных видов, включая *E. granulosus* s. str., *E. canadensis* (он же – *E. g. canadensis* или *E. g. borealis*), а также генотипы *E. canadensis* – G6/G7, G8 и G10. Т.е. *E. canadensis*,

с одной стороны, входит в группу *E. granulosus* s. lato, а с другой – подразделяется на генетически различные субъединицы. Важно, что генотипы *E. canadensis* имеют некоторые различия по областям распространения, дефинитивным и промежуточным хозяевам (Nakao et al., 2013a, 2013b). Было высказано предложение закрепить видовое название *E. canadensis* за генотипом G10, генотип G6/G7 называть *E. intermedius*, а G8 – *E. borealis* (Lymbery et al., 2015). В этой связи должна быть использована любая возможность расширить наши представления о молекулярных характеристиках эхинококков.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Отбор проб

10.10.2021 на границе Свечинского и Даровского районов Кировской области (58°65'13.4 N, 47°69'88.2 E) охотники добыли волка (*Canis lupus* Linnaeus, 1758). В тонком отделе кишечника были обнаружены цестоды цвета слоновой кости длиной 3–6 мм. Методом многократного промывания (Скрябин, 1928; Ивашкин и др., 1971) их извлекли и произвели подсчет по сколексам (2920 экз.). Морфометрические характеристики собранных цестод соответствуют диагнозу вида *E. granulosus* (Петров, Черткова, 1959 по: Абуладзе, 1964). Эхинококков поместили в пластиковую пробирку, которую наполнили дистиллированной водой и заморозили для последующего хранения и транспортировки.

Молекулярно-филогенетическое исследование

Фрагменты стробилы трех эхинококков трижды ополоснули в стерильной воде, разделили на части (размером не более 1–2 мм³) и поместили в пробирки Эппендорфа объемом 1.5 мл. Выделение ДНК проводили с помощью колонок из набора Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, США) в соответствии с протоколом производителя. От выделенных проб эхинококков использовали от 1.0 до 1.6 мкл экстрагированной ДНК для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР). Таксономическую принадлежность цестод устанавливали путем анализа последовательности фрагмента первой субъединицы митохондриального гена цитохромоксидазы (*CoxI*). Для этого осуществляли постановку ПЦР с помощью праймеров Thg452 (TGCAATTAGCTGGTGCCTCAAGTA) и Thg1326R (ACAAACACGCCGGGGTAACC) и соответствующего протокола (Littlewood et al., 2008) на амплификаторе T100 Thermal Cycler (Bio-Rad, США). Для визуальной оценки амплификации прибегали к электрофоретическому разделению продукта ПЦР в 1%-ном агарозном геле в течение 30 мин при напряжении 100 В в системе для электрофореза Mini-Sub Cell GT + PowerPac Basic (Bio-Rad, США) с последующим просмотром геля в трансиллюминаторе EXC-F15.M (Vilber Lourmat, Германия). Получив продукт ожидаемого размера (что определяли на основании оригинальных публикаций или собственного предшествующего опыта), оценивали его количество. В случае получения лишь слабых полос продукта проводили дополнительную амплификацию. Достаточное количество продукта объединяли в одну пробу и проводили ее очистку в 0.8% агарозном геле с помощью продолжительного (70–90 мин) электрофореза. Полосу с нужным размером продукта вырезали из геля пластиковым ножом. Из вырезанного фрагмента геля с амплифицированной ДНК выделяли продукт ПЦР с помощью набора SV Gel and PCR Clean-Up (Promega, США). Очищенный с помощью этих колонок продукт подвергали дополнительной очистке с помощью преципитации спиртом в присутствии ацетата аммония. Очищенный осадок разводили в автоклавированной воде высокой очистки – Molecular Grade Water (G-Biosciences, США). Количество добавляемой воды

меняли от 10 до 40 мкл, в зависимости от выраженности полос в геле. С помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, США) определяли концентрацию ДНК в полученной пробе. Пробы с высокой концентрацией ДНК разводили до концентрации 15–30 нг на 1 мкл. В дальнейшем на базе центра коллективного пользования «Генотех» (Институт молекулярной биологии РАН) проводили прямое секвенирование (т.е. секвенирование с теми же праймерами, которые были использованы для получения первичного ПЦР продукта).

Полученные хроматограммы в формате ab1 для прямого и обратного прочтений объединяли и анализировали с помощью программы Chromas 2.6.6 (Technelium Pty Ltd, Австралия). В ГенБанке (GenBank NCBI) проводили поиск филогенетически близких последовательностей с помощью алгоритма BLASTN 2.13.0+ (Zhang et al., 2000; Morgulis et al., 2008). В качестве внешней группы сравнения выбирали представителя другого семейства, рода или группы видов. Собственные и полученные из ГенБанка данные использовали для построения выравниваний в программе Clustal X (UCD, Ирландия). Полученные выравнивания в формате aln переводили в формат msf для обработки в программе GeneDoc 2.6.002 – удаления несовпадающих по длине частей последовательностей (необходимость этого определяется тем, что в ГенБанке депонированы последовательности разной длины). Полученную прямоугольную матрицу с данными анализировали в программе MEGA 7.0.14 (Kumar et al., 2016). Использовали три основных алгоритма анализа: 1) максимальной экономии (maximum parsimony, MP); 2) присоединения ближайшего соседа (neighbor-joining, NJ); 3) максимального правдоподобия (maximum likelihood, ML). Для последнего варианта анализа определяли наиболее правдоподобную модель эволюции с помощью встроенной подпрограммы в MEGA7.0.14. Конечная длина выравнивания по гену *CoхI* составила 539 п.н. для всех последовательностей.

Ваучерный образец (№ 14308), содержащий 10 особей эхинококка в 80% этаноле, передали на хранение в Музей гельминтологических коллекций Центра Паразитологии ФГБУН «Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук» (Москва). Выделенная нуклеотидная последовательность депонирована в ГенБанк NCBI под номером OR897742.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Филогенетический анализ изученных образцов эхинококков представлен на рис. 1. Полученные нами нуклеотидные последовательности гена *CoхI* имагинальных эхинококков от волка из Кировской области оказались на 100% идентичны таковым: 1) из личинок эхинококков от лося (*Alces alces*) из России, депонированных Yanagida, Chinchuluun и Nakao (2017) под номером LC184605 (Yanagida et al., 2017); 2) из личинок эхинококков от северного оленя (*Rangifer tarandus*) из России, депонированных Yanagida и Nakao (2013) под номером AB777913 (Konyaev et al., 2013); 3) от взрослых эхинококков от волка из России, депонированных Yanagida и Nakao (2013) под номером AB777912 (Konyaev et al., 2013); 4) из личинок эхинококков от лося из России, депонированных Yanagida и Nakao (2013) под номером AB777911 (Konyaev et al., 2013); 5) из личинок эхинококков от лося из Финляндии, депонированных Nakao (2013) под номером AB745463 (Nakao et al., 2013a, 2013b).

Изученный нами образец попадает в группу (филогенетическую кладу) форм со средним уровнем поддержки при анализе методом максимальной экономии (MP) и

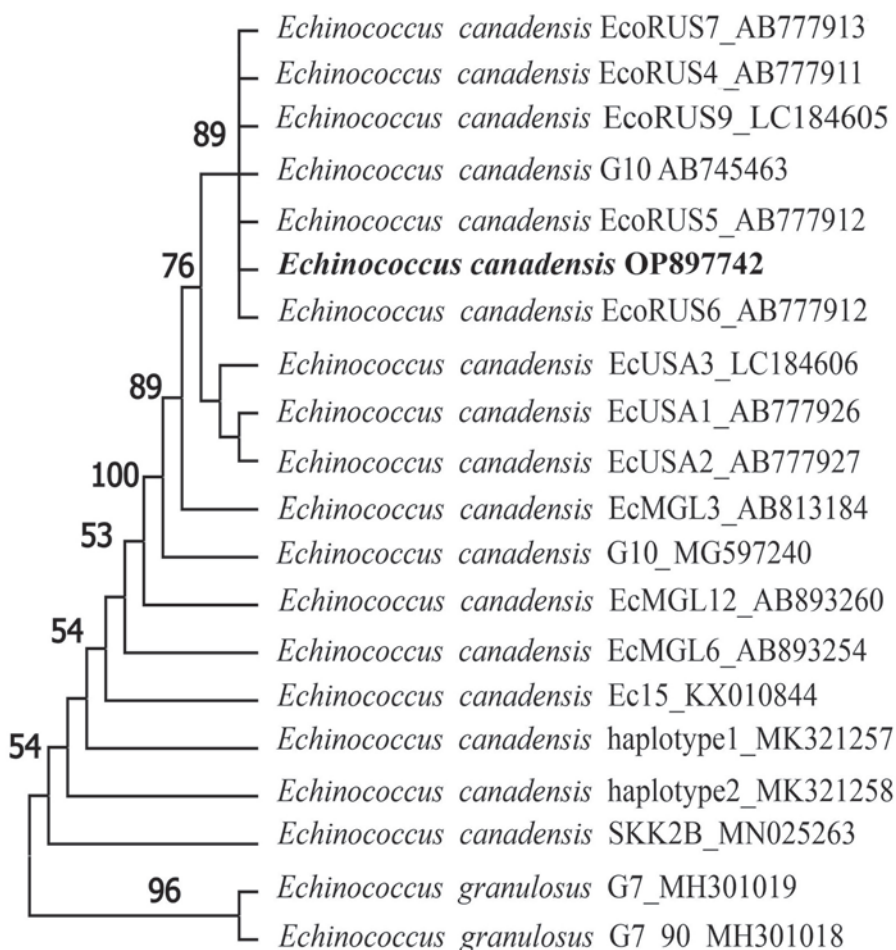


Рисунок 1. Филогенетические связи образца половозрелого *Echinococcus canadensis*, выявленного у волка (*Canis lupus*) в Кировской области, по результатам анализа частичной последовательности митохондриального гена цитохромоксидазы I.

Значения bootstrap-поддержки даны в формате MP/NJ/ML (если данная филогенетическая клада при данном виде анализа не выявляется, это отмечено знаком «-»).

Для ML-анализа использовали модель НКУ. Для всех видов анализа для определения значения bootstrap-поддержки применяли анализ при 500 псевдо-повторах.

Figure 1. Phylogenetic relationships of a sample of adult *Echinococcus canadensis*, found in a wolf (*Canis lupus*) in the Kirov Region, according to the results of analysis of a partial sequence of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I gene. Bootstrap support values are given in MP/NJ/ML format (noted with “-“ if this phylogenetic

clade is not detected in this type of analysis). Maximum Likelihood (ML) method was used according HKY model with 500 bootstrap replicates.

присоединения ближайшего соседа (NJ). При анализе методом максимального правдоподобия (ML) эта группа не выявляется. При всех трех методах анализа самую высокую поддержку (99–100%) показывает группа, объединяющая, как нам представляется, исключительно изученные формы *E. canadensis* генотипа G10. Визуальный анализ полученного выравнивания позволил обнаружить четыре позиции, по которым выявляются характерные только для этого генотипа замены. Примечательно, что в выравнивании можно обнаружить и замену по одной из позиций, которая характерна исключительно для представителей генотипа G10, обнаруженных в России и в Финляндии (Nakao et al., 2013a, 2013b). Сам по себе генотип G10 приурочен к северным территориям и таким дефинитивным хозяевам, как волки и собаки.

Несмотря на неразрешенный вопрос о таксономическом статусе *E. canadensis*, важно понимать, что исследованные нами эхинококки не относятся к виду *E. multilocularis* (син. *Alveococcus multilocularis* (Leukart, 1863) Abuladse, 1960). Мы особо подчеркиваем этот момент, поскольку известны случаи смешанной инвазии эхинококков разных видов у волков (Schurer et al., 2014).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, эхинококки, обнаруженные при вскрытии волка в Кировской области, относятся к генотипу G10 *E. canadensis*. А нуклеотидная последовательность гена *Coх1* у изученных образцов обладает уникальной для G10 заменой, что позволяет рассматривать ее как биогеографический маркер.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абуладзе К.И. 1964. Основы цестодологии: Тениаты – ленточные гельминты животных и человека и вызываемые ими заболевания (том IV). М., Наука, 530 с. [Abuladze K.I. 1964. Principles of cestodology: Taeniata of Animals and Man and Diseases Caused by Them (Vol. IV). Moscow, Nauka, 530 pp. (In Russian)] (English translation, Israel Program for Scientific Translations, 1970).
- Ивашкин В.М., Контримавичус В.Н., Назарова Н.С. 1971. Методы сбора и изучения гельминтов наземных млекопитающих. М., Наука, 123 с. [Ivashkin V.M., Kontrimavichus V.N., Nazarova N.S. 1971. Methods for collecting and studying helminths of terrestrial mammals. Moscow, Nauka, 123 pp. (In Russian)]
- Скрябин К.И. 1928. Метод полных гельминтологических вскрытий позвоночных, включая человека. М., Изд-во МГУ, 45 с. [Skryabin K.I. 1928. Method of complete helminthological dissections of vertebrates, including humans. Moscow, Publishing House of Moscow State University, 45 pp. (In Russian)]
- Beaver P.C., Jung R.C., Cupp E.W. 1984. Clinical Parasitology, 9th ed. Philadelphia, Pennsylvania, Lea & Febiger, 825 pp.
- Konyaev S.V., Yanagida T., Nakao M., Ingovatova G.M., Shoykhet Y.N., Bondarev A.Y., Odnokurtsev V.A., Loskutova K. S., Lukmanova G. I., Dokuchaev N. E., Spiridonov S., Alshinecky M. V., Sivkova T.N., Andreyanov O. N., Abramov S. A., Krivopalov A. V., Karpenko S. V., Lopatina N. V., Dupal T.A., Sako Y., Ito A. 2013. Genetic diversity of *Echinococcus* spp. in Russia. Parasitology 140 (13): 1637–1647. <https://doi.org/10.1017/S0031182013001340>
- Kumar S., Stecher G., Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis. Version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution 33: 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- Littlewood D.T. J., Waeschenbach A., Nikolov P.N. 2008. In search of mitochondrial markers for resolving the

- phylogeny of cyclophyllidean tapeworms (Platyhelminthes, Cestoda) – A test study with Davaineidae. *Acta Parasitologica* 53 (2): 133–144. <https://doi.org/10.2478/s11686-008-0029-4> 2008
- Lymbery A.J., Jenkins E.J., Schurer J.M., Thompson R.C.A. 2015. *Echinococcus canadensis*, *E. borealis*, and *E. intermedius*. What's in a name? *Trends in Parasitology* 31 (1): 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.11.003>
- Morgulis A., Coulouris G., Raytselis Y., Madden T.L., Agarwala R., Schäffer A.A. 2008. Database Indexing for Production MegaBLAST Searches. *Bioinformatics* 24: 1757–1764. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn322>
- Nakao M., Lavikainen A., Yanagida T., Ito A. 2013a. Phylogenetic systematics of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae). *International Journal for Parasitology* 43 (12–13): 1017–1029. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.06.002>
- Nakao M., Yanagida T., Konyaev S., Lavikainen A., Odnokurtsev V.A., Zaikov V.A., Ito A. 2013b. Mitochondrial phylogeny of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae) with emphasis on relationships among *Echinococcus canadensis* genotypes. *Parasitology* 140 (13): 1625–1636. <https://doi.org/10.1017/S0031182013000565>
- Schurer J., Gesy K., Elkin B., Jenkins E. 2014. *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus canadensis* in wolves from western Canada. *Parasitology* 141 (2): 159–163. <https://doi.org/10.1017/S0031182013001716>
- Yanagida T., Lavikainen A., Hoberg E.P., Konyaev S., Ito A., Sato M.O., Zaikov V.A., Beckmen K., Nakao M. 2017. Specific status of *Echinococcus canadensis* (Cestoda: Taeniidae) inferred from nuclear and mitochondrial gene sequences. *International Journal of Parasitology* 47 (14): 971–979. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2017.07.001>
- Zhang Z., Schwartz S., Wagner L., Miller W. 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *Journal of Computational Biology* 7 (1–2): 203–214. <https://doi.org/10.1089/10665270050081478>

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *ECHINOCOCCUS CANADENSIS* (CESTODA, TAENIIDAE) IN WOLF FROM THE KIROV REGION

O. A. Loginova, S. E. Spiridonov, O. V. Maslennikova, L. A. Bukina

Keywords: *Echinococcus canadensis*, G10, wolf, Kirov region

SUMMARY

The molecular characteristics of parasitic tapeworms of the genus *Echinococcus* were studied. Helminths were discovered during the autopsy of a wolf (*Canis lupus* Linnaeus, 1758), hunted in the Kirov region in October of 2021. Molecular phylogenetic study was performed by analyzing the sequence of a fragment of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene. It was found that the obtained helminths belong to the G10 *E. canadensis* genotype, which is common in wolves in the northern territories of the Holarctic. Four positions were found for which substitutions characteristic only for this genotype are identified. A substitution was also found for one of the positions, which is characteristic only for representatives of the G10 genotype found in Russia and Finland.

УДК 576.895.133:595.133

ОБ ОРГАНИЗАЦИИ ЯДЕР В ТЕГУМЕНТЕ НЕКОТОРЫХ СКРЕБНЕЙ КЛАССОВ PALAEACANTHOCEPHALA И ARCHIACANTHOCEPHALA

© 2023 г. В. П. Никишин^{а,*}, Д. В. Пономарёв^б

^аИнститут биологических проблем Севера ДВО РАН,
Портовая ул., 18, Магадан, 685000 Россия

^бИнститут цитологии и генетики СО РАН,
пр. акад. Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090 Россия
*e-mail: nikishin@ibpn.ru

Поступила в редакцию 21.07.2022 г.

После доработки 16.12.2022 г.

Принята к публикации 22.12.2022 г.

Гигантские ядра тегумента скребней классов *Archiacanthocephala* и *Palaeacanthocephala* фрагментируются на завершающем этапе формирования цистаканта в промежуточном хозяине, но в течение дальнейшей жизни паразита фрагменты ядер могут оставаться связанными друг с другом. Предполагается, что фрагменты каждого гигантского ядра образуют самостоятельную сеть. Биологический смысл такой конструкции предположительно заключается в регуляции жизнедеятельности тегумента, объем которого многократно увеличивается в период интенсивного роста паразита в дефинитивном хозяине.

Ключевые слова: акантоцефалы, ядра тегумента, фрагментация ядер, *Corynosoma strumosum*, *Macracanthorhynchus catulinus*

DOI: 10.31857/S0031184723010040; **EDN:** FJKZVU

Покров скребней, как известно, представлен уникальным многоядерным образованием – тегументом, организованным в виде симпласта, в отличие от синцитиального тегумента плоских паразитических червей. Во внутреннем, радиально-волокнистом, слое тегумента располагаются ядра или их производные. Количество и морфология тегументных ядер во многих случаях могут существенно различаться как у представителей разных таксономических групп, так и у одного вида на протяжении его онтогенеза (Van Cleave, 1914, 1928). У скребней класса *Eoacanthocephala* шесть (реже пять) гигантских ядер более или менее округлой формы сохраняются на протяжении жизни от эмбриональной личинки до взрослой особи. У представителей класса *Archiacanthocephala* в период развития паразита в промежуточном хозяине ядра ста-

новятся амeboидными, разветвленными или фрагментированными, и их количество, по разным данным, может увеличиваться до двадцати или даже сотни, тогда как у *Palaeacanthocephala* ядра, также без образования веретена деления, распадаются или фрагментируются на множество небольших фрагментов (Van Cleave, 1928; Meyer, 1933; Петроченко, 1956, 1958; Robinson, 1973; Miller, Dunagan, 1985; Хохлова, 1986; Лисицына, 2019; и др.).

Ещё ранние исследователи отмечали наличие связей между отдельными «ядерными телами» (Graybill, 1902; Van Cleave, 1928), и по этой причине ядра иногда называли «дендритными» (Graybill, 1902). Анализируя морфологию ядер у разных видов скребней и имеющиеся на тот момент данные литературы, Van Cleave (1928) подчеркивал, что у некоторых видов между ядерными фрагментами могут сохраняться тончайшие связи: «In exceptional preparations of many of these forms it is possible in some instances to trace minute thread-like strands of nuclear material uniting widely dispersed nuclear bodies» (Van Cleave, 1928, p. 113). Тонкие связи между ядрами тегумента у поздней акантеллы скребня *Polymorphus minutus* иногда наблюдались в процессе электронно-микроскопических исследований (Butterworth, 1969), однако фотографии связей в этой работе, как и в других, упомянутых выше, отсутствуют. В большинстве же других исследований подобные связи не отмечались.

Изучая морфологию тегумента некоторых скребней, мы обнаружили связи фрагментов ядер друг с другом. В настоящем сообщении приводятся результаты этих наблюдений.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для исследований послужили взрослые скребни *Macracanthorhynchus catulinus* Kostylew, 1927 (*Archiacanthocephala*) и ювенильные скребни *Corynosoma strumosum* (Rudolphi, 1802) Lühe, 1904 (*Palaeacanthocephala*). Жизненный цикл *M. catulinus* включает обязательных промежуточного (чернотелки) и окончательного (хищные млекопитающие) хозяев, а также паратенического хозяина (мелкие млекопитающие). Жизненный цикл *C. strumosum* также триксенный и включает бокоплавов в качестве промежуточного, морских и пресноводных рыб в качестве паратенического и морских млекопитающих и рыбоядных птиц в качестве окончательного хозяев (Петроченко, 1958).

Скребней *M. catulinus* извлекали из кишечника окончательного хозяина – обыкновенной лисицы (*Vulpes vulpes*) и препарировали по общепринятой методике с заключением их в гистомикс. Срезы изготавливали на микротоме Sakura Accu-Cut® SRM™ 200 (Япония), окрашивали гематоксилин-эозином и изучали в световом микроскопе Nikon CI-S (Япония).

Скребней *C. strumosum* извлекали из полости тела паратенических хозяев – тихоокеанской наваги (*Eleginus gracilis*) и тихоокеанской зубастой корюшки (*Osmerus mordax dentex*), фиксировали в 2%-ном глутаральдегиде на 0.1 М фосфатном буфере, постфиксировали 1%-ным тетраоксидом осмия на 0.2 М фосфатном буфере, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заключали в смесь Аралдита и Эпона. В процессе обезвоживания образцы контрастировали 1%-ным уранилацетатом в 70%-ном спирте в течение 12 ч. Полутонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме LKB-V (Швеция), окрашивали смесью кристаллического

фиолетового и метиленового синего (в соотношении 1:1), изучали в световых микроскопах Биомед-2 (Российская Федерация) и Olympus CX41 (Япония) и фотографировали цифровой камерой Olympus E-420. Ультратонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме РТ-РС (США), дополнительно контрастировали уранилацетатом, просматривали в электронном микроскопе JEM 1400 PLUS (Япония) и фотографировали цифровой камерой Veleta.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Тегумент исследованных скребней обоих видов устроен по единой схеме и представляет собой симпласт, снаружи и изнутри ограниченный цитоплазматическими мембранами. В составе тегумента определяются покровный комплекс и поперечнополосатый (полосатый), везикулярный, войлочно-волокнистый (войлочный), радиально-волокнистый (радиальный) и трубчатый (базальный лабиринт) слои (Taraschewski, 2000; Никишин, 2004).

В радиально-волокнистом слое тегумента скребня *Macracanthorhynchus catulinus* обнаружены многочисленные фрагменты ядер разнообразной, неправильной формы с отростками (рис. 1). Наличие отростков затрудняет определение размеров этих фрагментов, но в большинстве случаев они не превышают 60 мкм по большей оси. Кариоплазма ядер интенсивно окрашена и включает плотные образования разного размера, чаще всего напоминающие скопления гетерохроматина. Наиболее крупные из них вследствие правильной овальной или округлой формы сходны с ядрышками и часто полностью или частично окружены светлыми гало.

Обычно ядерные фрагменты частично или, реже, полностью располагаются в лакунах тегумента. На срезах лакуны выглядят как светлые участки цитоплазмы, ограниченные нечеткими тонкими фибриллоподобными элементами.

Соседние ядерные фрагменты связаны между собой тонкими отростками. Кариоплазма отростков темная, без заметных включений. Эти связи пересекают цитоплазму и лакуны, в которых частично или полностью помещаются ядра.

Фрагменты ядер тегумента *C. strumosum*, в отличие от наблюдаемых у *M. catulinus*, обычно более компактные, неправильно угловатой формы, размерами 10–15 мкм (рис. 2, 3). Гомогенная кариоплазма включает несколько мелких скоплений гетерохроматина и довольно часто одно ядрышко диаметром 1–3 мкм. Большинство ядерных фрагментов характеризуется относительно короткими конусовидными выростами. От выростов начинаются нитевидные отростки, во многих случаях связывающие ядерные фрагменты друг с другом.

Лакуны в тегументе *C. strumosum* визуальны не столь многочисленны, как в тегументе *M. catulinus*, и лишь некоторые ядра частично располагаются в них. По краям лакун, как и у первого вида, наблюдаются нечеткие фибриллоподобные образования.

У обоих видов связи между фрагментами ядер наблюдались на срезах, ориентированных параллельно или почти параллельно поверхности тела скребней. На поперечных срезах они не выявлялись; возможно, именно по этой причине, а также вследствие их малой толщины сведения об этих связях в литературе немногочисленны.

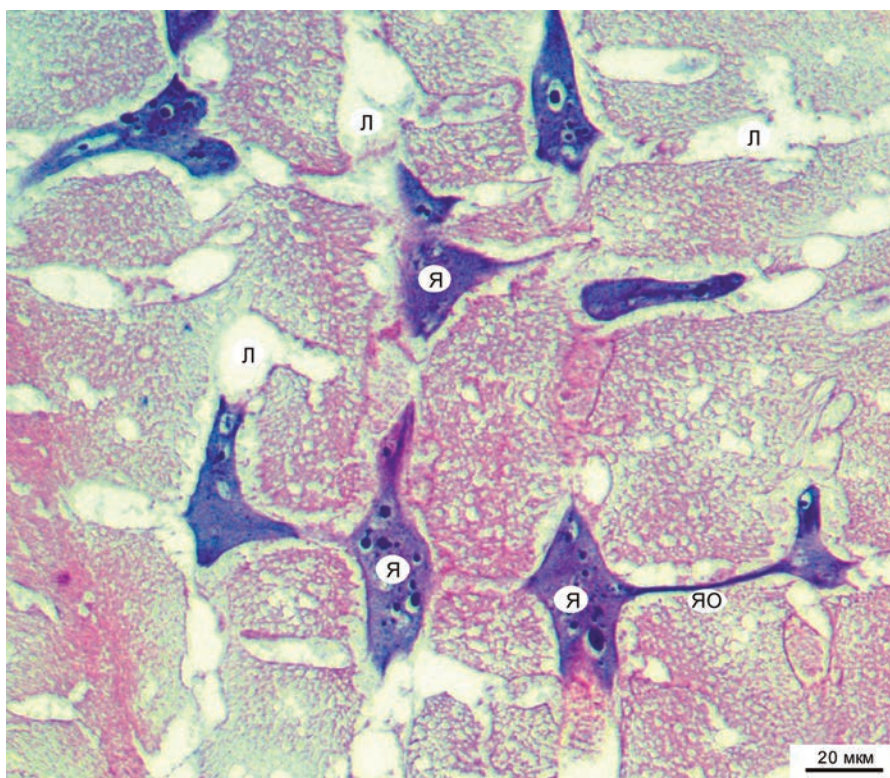


Рисунок 1. Фрагменты ядер (Я) в радиально-волокнистом слое тегумента скребня *Macracanthorhynchus catulinus*. Л – лакуны; ЯО – отростки, связывающие ядерные фрагменты. Световая микроскопия, гистомиксовый срез.

Figure 1. Fragments of nuclei (Я) in the radial layer of the tegument of the *Macracanthorhynchus catulinus*. Л – lacunae; ЯО – processes that bind nuclear fragments. Light microscopy, histomix section.

Согласно данным большинства исследователей (Crook, Grundmann, 1964; Butterworth, 1969; Olson, Pratt, 1971; Robinson, 1973; Amin, 1982; Oetinger, Nickol, 1982), фрагментация ядер у разных видов скребней, относящихся к классам Palaeacanthocephala и Archiacanthocephala, происходит в период их развития от средней до поздней акантеллы. Так, у *Acanthocephalus jacksoni* в эксперименте фрагментация «гигантских кортикальных ядер» начиналась в период между 50 и 60-ми сутками развития, а к 80-м суткам ядра были полностью фрагментированы; при этом вполне развитые цистаканты наблюдались между 80 и 90-ми сутками эксперимента (Oetinger, Nickol, 1982). Результаты изучения развития цистакантов этого вида в естественных условиях позволили предположить, что факторы, регулирующие дифференцировку «гигантских субкутикулярных ядер» у этого вида, могут действовать независимо от факторов, влияющих на дифференцировку и рост половых зачатков (Amin, 1982). У скребня *Echinorhynchus lageniformis* «гигантские кортикальные ядра становятся дендритными к 22 дню» эксперимента, а к 25-му дню начинают распадаться, образуя

«конденсированные ядерные фрагменты»; весь период формирования цистаканта составлял в эксперименте 30 дней (Olson, Pratt, 1971). Похожая картина наблюдается у скребня *Polymorphus minutus*, у которого на стадии поздней акантеллы ядра становятся древовидными и затем распадаются на мелкие фрагменты, между которыми иногда наблюдаются тонкие связи (Butterworth, 1969). У *Moniliformis clarki* многочисленные ядра отмечены авторами на 29-е сутки эксперимента при общей его продолжительности до достижения стадии цистаканта 60 суток (Crook, Grundmann, 1964). В детальном исследовании другого представителя рода, *Moniliformis moniliformis*, тегумент акантора сразу после вылупления последнего содержит около сорока ядер, а у цистаканта их количество примерно удваивается; через несколько часов после заражения окончательного хозяина (крысы) ядра становятся дольчатыми и через 4 недели частично фрагментируются (Robinson, 1973).

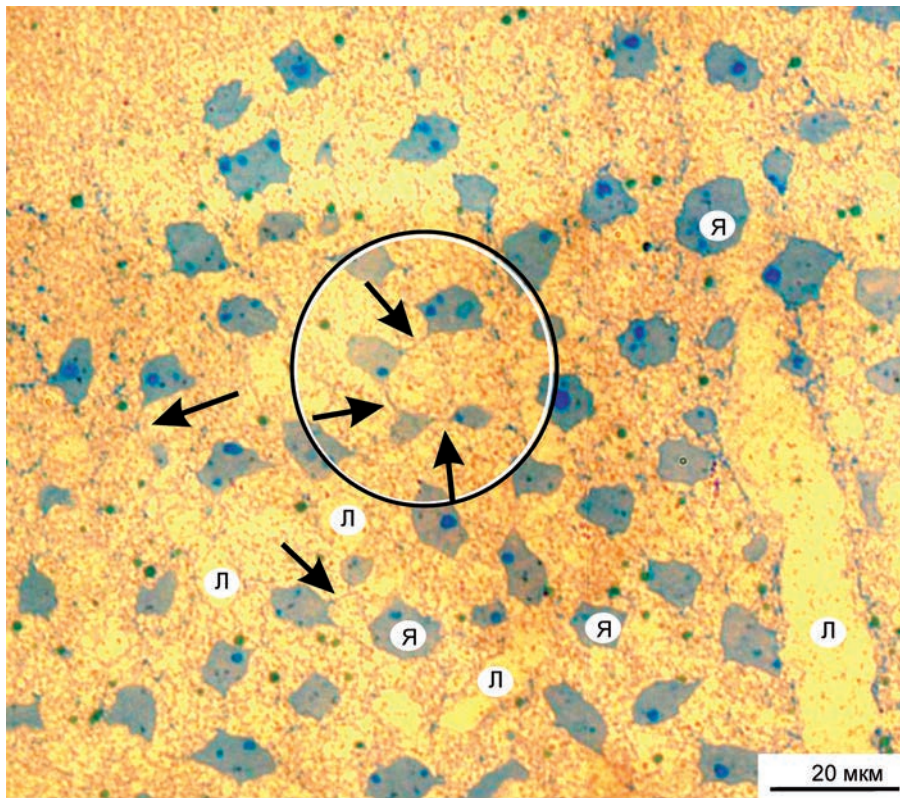


Рисунок 2. Фрагменты ядер (Я) в радиально-волокнистом слое тегумента скребня *Corynosoma strumosum*. Л – лакуны. Овалом показаны ядерные фрагменты, тонкими отростками связанные друг с другом. Стрелками показаны отростки ядер. Световая микроскопия, полутонкий срез.

Figure 2. Fragments of nuclei (Я) in the radial layer of the tegument of the *Corynosoma strumosum*. Л – lacunae. The oval shows nuclear fragments connected to each other by thin processes. The arrows show the processes of the nuclei. Light microscopy, semi-thin section.

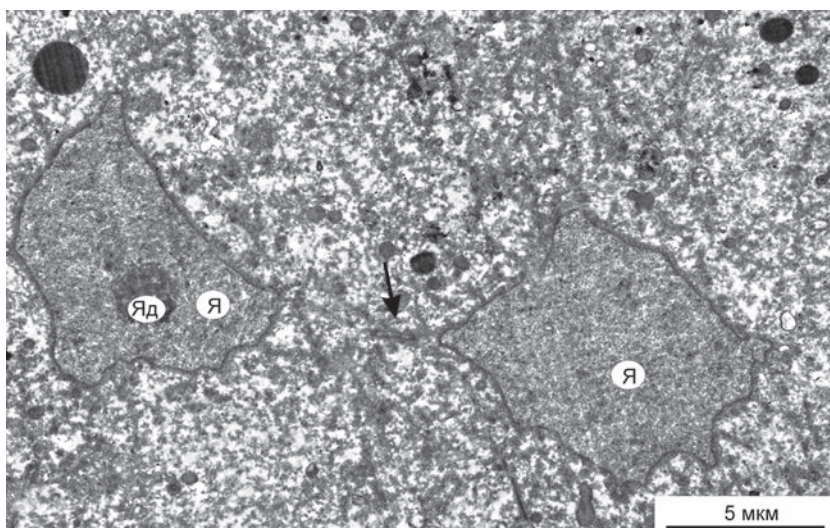


Рисунок 3. Два фрагмента ядра (Я) в радиально-волоконистом слое тегумента скребня *Corynosoma strumosum*, вероятно соединенные отростком (стрелка). Яд – ядрышко. Электронная микроскопия.

Figure 3. Two fragments of the nuclei (Я) in the radial layer of the tegument of *Corynosoma strumosum*, probably connected by a process (arrow). Яд – nucleolus. Electron microscopy.

Из анализа литературы следует, что, за исключением последнего случая, фрагментация ядер происходит до достижения скребнем стадии цистаканта и тем более до перехода его в следующего хозяина. В то же время наши результаты в совокупности с приведенными здесь данными других исследователей (Graybill, 1902; Van Cleave, 1928; Butterworth, 1969) свидетельствуют о том, что фрагментация ядер в ряде случаев не является полной, и между их фрагментами сохраняются связи в виде узких полосок кариоплазмы, ограниченной типичной двумембранной ядерной оболочкой. Различия в размерах фрагментов ядер и толщине соединяющих их отростков, по-видимому, соответствуют различиям в размерах исследованных скребней: у *M. catulinus* длина тела 35–125 мм, у *C. strumosum* – 5–9 мм (Петроченко, 1958). Не исключено, что подобные связи между фрагментами ядер характерны для представителей других видов обоих упомянутых классов скребней; дополнительные исследования должны подтвердить или опровергнуть это предположение.

Невозможно сказать, насколько длителен процесс фрагментации, но нет никаких данных, за исключением упомянутой работы Робинсона (Robinson, 1973), о том, что фрагментация в таком же виде продолжается на следующей после цистаканта стадии жизненного цикла, т.е. у ювенильных и взрослых червей. На наш взгляд, более принципиальным является предположение о постоянстве связей между фрагментами ядер и сохранении их у взрослых скребней, основанием для которого являются приведенные здесь наши наблюдения взрослого скребня *M. catulinus*.

Если это предположение верно, то тогда ядерные фрагменты, возможно, остаются объединенными этими связями в несколько систем, количество которых может быть равно количеству первоначальных гигантских ядер тегумента. Биологический смысл такой конструкции может заключаться в обеспечении жизнедеятельности тегумента, объем которого многократно увеличивается в период жизни паразита в дефинитивном хозяине. Интересно, что у представителей класса Eoacanthocephala, которые в своем большинстве характеризуются мелкими размерами, гигантские ядра тегумента не фрагментируются и на протяжении всей жизни паразита сохраняют «яйцевидную или амебонидную» форму (Петроченко, 1956; Miller, Dunagan, 1985).

Некоторое сходство с фрагментацией ядер имеет явление отпочкования от фрагментированных ядер мелких фрагментов, недавно обнаруженное у взрослого скребня *Acanthocephalus tenuirostris* (Palaeacanthocephala) (Давыденко, Никишин). Однако в этом случае связи между ядрами и отпочковавшимися мелкими фрагментами не наблюдались.

Таким образом, фрагментация гигантских ядер в тегументе скребней, относящихся к классам Palaeacanthocephala и Archiacanthocephala, не является полной, и образовавшиеся ядерные фрагменты, как минимум, у исследованных здесь видов, сохраняют связи друг с другом. Можно предполагать, что фрагменты каждого гигантского ядра тегумента объединены друг с другом в самостоятельную сеть. Эта сеть обеспечивает жизнедеятельность тегумента, объем которого многократно увеличивается в период интенсивного роста паразита в окончательном хозяине.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования проведены в ходе выполнения государственного задания по теме «Таксономическое, морфологическое и экологическое разнообразие гельминтов позвоночных животных Северной Азии № AAA-A17-117012710031-6».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Давыденко Т.В., Никишин В.П. Особенности организации тегумента у цистаканта и взрослого скребня *Acanthocephalus tenuirostris*. Биология внутренних вод. (В печати). [Davydenko T.V., Nikishin V.P. Features of the tissue organization in the female reproductive system of *Acanthocephalus tenuirostris* (Palaeacanthocephala, Echinorhynchida). Inland water biology. (in Press) (In Russian)].
- Лисицына О.И. 2019. Фауна Украины. Т. 31. Акантоцефалы. Киев, Наукова Думка, 223 с. [Lisitsyna O.I. 2019. Fauna of Ukraine. Vol. 31. Acanthocephala. Kyiv, Naukova Dumka. 223 pp. (In Russian)].
- Никишин В.П. 2004. Цитоморфология скребней (покровы, защитные оболочки, эмбриональные личинки). М., ГЕОС, 234 с. [Nikishin V.P. 2004. Tsitomorfologiya skrebney (pokrovy, zashchitnyye obolochki, embrional'nyye lichinki. Moscow, GEOS, 234 pp. (In Russian)].
- Петроченко В.И. 1956. Акантоцефалы (скребни) домашних и диких животных. Т. I. М., Изд-во АН СССР, 435 с. [Petrochenko V.I. 1956. Vol. I. Acanthocephala of Domestic and Wild Animals. Moscow, Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR. 435 pp. (In Russian)].
- Петроченко В.И. 1958. Акантоцефалы (скребни) домашних и диких животных. Т. II. М., Изд-во АН СССР, 458 с. [Petrochenko V.I. 1958. Vol. II. Acanthocephala of Domestic and Wild Animals. Moscow, Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, 458 pp. (In Russian)].

- Хохлова И.Г. 1986. Акантоцефалы наземных позвоночных фауны СССР. М., Наука, 278 с. [Khokholova I.G. 1986. Acanthocephals of Terrestrial Vertebrates of the USSR Fauna. Moscow, Nauka, 278 pp. (In Russian)].
- Amin O.M. 1982. Description of larval *Acanthocephalus parksidei* Amin, 1975 (Acanthocephala: Echinorhynchidae) from its isopod intermediate host. Proceedings of the Helminthological Society of Washington 49 (2): 235-245.
- Butterworth P. 1969. The development of the body wall of *Polymorphus minutus* (Acanthocephala) in its intermediate host *Gammarus pulex*. Parasitology 59 (2): 373-388. <https://doi.org/10.1017/s0031182000082342>
- Crook J.R., Grundmann A.W. 1964. The life history and larval development of *Moniliformis clarki* (Ward. 1917). Journal of Parasitology 50 (5): 689-693.
- Graybill H.W. 1902. Some points in the structure of the Acanthocephala. Transactions of the American Microscopical Society 23: 191-200.
- Meyer A. 1933. Acanthocephala. Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft M.B.H., 582 S.
- Miller D.M., Dunagan T.T. 1985. Functional morphology. In: Crompton D.W.T., Nickol B.B. (eds). Biology of the Acanthocephala. Cambridge, Cambridge University Press, 73-123.
- Oetinger D.F., Nickol B.B. 1982. Developmental relationship between acanthocephalans and altered pigmentation in freshwater isopods. Journal of Parasitology 68 (3): 463-469.
- Olson R.E., Pratt I. 1971. The life cycle and larval development of *Echinorhynchus lageniformis* Ekbaum, 1938 (Acanthocephala: Echinorhynchidae). Journal of Parasitology 57 (1): 143-149.
- Robinson E.S. 1973. Growth and differentiation of giant nuclei in *Moniliformis* (Acanthocephala). Journal of Parasitology 59 (4): 678-684.
- Taraschewski H. 2000. Host-parasite Interactions in Acanthocephala: a Morphological Approach. Advances in Parasitology 46: 1-179.
- Van Cleave H.J. 1914. Studies on cell constancy in the genus *Echinorhynchus*. Journal of Morphology 25 (2): 253-298.
- Van Cleave H.J. 1928. Nuclei of the subcuticula in the Acanthocephala. Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie 7 (1): 109-113.

ON THE ORGANIZATION OF THE NUCLEI IN THE TEGUMENT OF SOME PALAEACANTHOCEPHALA AND ARCHIACANTHOCEPHALA

V. P. Nikishin, D. V. Ponomarev

Keywords: anthocephalans, tegument nuclei, fragmentation of nuclei, *Corynosoma strumosum*, *Macracanthorhynchus catulinus*

SUMMARY

The giant tegument nuclei of the acanthocephalans of the classes Archiacanthocephala and Palaeacanthocephala are fragmented at the final stage of cystacanthus formation in the intermediate host, but remain connected with each other during later life. It can be assumed that the fragments of each giant tegument nucleus are united with each other forming an independent network that ensures the vital activity of the tegument, the volume of which increases repeatedly during the period of intensive growth of the parasite in the definitive host.

УДК 593.1: 576.8

ФАУНА ЭНДОБИОНТНЫХ ИНФУЗОРИЙ РУБЦА ОЛЕНЕЙ *CERVUS ELAPHUS* LINNAEUS, 1758

© 2023 г. О. А. Корнилова^а, А. В. Радаев^б,
И. В. Серёдкин^с, Л. В. Чистякова^{д,*}

^а Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена,
наб. р. Мойки, д. 48, Санкт-Петербург, 191186 Россия

^б Санкт-Петербургский государственный университет,
Университетская наб. 7–9, Санкт-Петербург, 190034 Россия

^с Тихоокеанский институт географии ДВО РАН,
ул. Радио, 7, Владивосток, 690041 Россия

^д Зоологический институт РАН, Университетская наб., 1, Санкт-Петербург, 190034 Россия

*e-mail: Ludmila.Chistyakova@zin.ru

Поступила в редакцию 31.10.2022 г.

После доработки 19.12.2022 г.

Принята к публикации 21.12.2022 г.

Впервые исследована фауна инфузорий-эндобионтов рубца изюбры *Cervus elaphus xanthopigus* и марала *Cervus elaphus sibiricus* на территории Азии. Всего обнаружено 14 видов и 5 форм инфузорий, относящихся к пяти родам семейств Ophryoscolecidae и Isotrichidae. Видовой состав эндобионтных инфузорий у всех исследованных изюбр и марала оказался сходен в значительной степени. В большинстве проб обнаружен *Entodinium wapiti*, ранее считавшийся специфичным для североамериканского оленя-вапити *Cervus canadensis*. Обсуждается влияние различных факторов на формирование определенной структуры сообществ инфузорий-эндобионтов рубца благородного оленя *Cervus elaphus*.

Ключевые слова: эндобионтные инфузории, *Cervus elaphus*, Ophryoscolecidae, Isotrichidae

DOI: 10.31857/S0031184723010052; **EDN:** FJPECC

Эндобионтные инфузории – один из компонентов сложной экосистемы, формирующейся в рубце жвачных (Newbold et al., 2015). Как важная составная часть микробиома рубца, инфузории принимают участие в процессах пищеварения хозяина, в т.ч. в процессах расщепления растительных волокон. Фауна инфузорий-эндобионтов рубца крупного рогатого скота и других одомашненных видов жвачных исследована достаточно детально, значительное количество публикаций посвящено изучению видового

разнообразия инфузорий, их взаимодействий с различными группами микроорганизмов, населяющих рубец, биохимии рубца, в первую очередь процессов метаногенеза (Корнилова, 2004а; Hall, 2011; Denton et al., 2015; Tapio et al., 2017; Park, Yu, 2018). Однако эндобионтные инфузории из пищеварительного тракта диких видов жвачных изучены далеко не так подробно. Как правило, имеются единичные публикации о видовом разнообразии эндобионтов рубца того или иного вида хозяина, для ряда видов жвачных данные отсутствуют вовсе. В то же время изучение сообществ инфузорий из рубца жвачных, различающихся особенностями биологии и экологии (например, по пищевому рациону, уровню стадности и др.), представляет несомненный интерес. Результаты подобных исследований позволяют оценить влияние различных факторов на формирование сообществ эндобионтов, выявить различия в видовой структуре таких сообществ между отдельными популяциями и видами животных-хозяев, определить уровень специфичности взаимодействий партнеров в симбиотической ассоциации. В настоящей работе впервые была исследована фауна эндобионтных инфузорий подвидов благородного оленя *Cervus elaphus* на территории Азии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на материале инфузорий из рубца благородного оленя – подвида изюбрь *Cervus elaphus xanthopygus* Milne-Edwards, 1867 (Тернейский и Ольгинский районы, Приморский край) и подвида марал *C. e. sibiricus* Severtzov, 1873 (Ондугайский район, Республика Алтай) (табл. 1).

Сбор материала проводили в разные сезоны года с 2015 по 2021 гг. Содержимое рубца объемом 30 мл отбирали в его заднем отделе (на удалении от сообщения с пищеводом и сеткой) у внутренней стенки с помощью стерильных скальпеля и пинцета и помещали в стерильную пробирку объемом 100 мл. Пробы фиксировали в 7%-ном растворе формалина в соотношении 2:1 раствора к содержимому рубца, до фиксации образцы хранили при температуре +4°C.

Светомикроскопические исследования и микрофотографирование проводили с использованием микроскопов МБИ-11 (ЛОМО, Россия), Альтами-Инверт-3 (Альтами, Россия) с фотонасадкой и Leica DM2500 (Leica-Microsystems, Germany), оснащённого дифференциальным интерференционным контрастом и цифровой камерой Leica DFC495 (8.0MP).

При изучении морфологии клетки для выявления макронуклеуса использовали 0.1% раствор метилового зелёного в 1% растворе уксусной кислоты. Численность инфузорий в 1 мл содержимого рубца определяли методом «калиброванной капли» (Корнилова, 2004б). Для определения видовой принадлежности инфузорий использовали работы Догеля (1929), Williams, Coleman (1992), Dehority (1993) и Корниловой (2010).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

В пробах содержимого рубца благородных оленей в общей сложности нами было выявлено 14 видов и 5 форм инфузорий, относящихся к пяти родам семейств Ophryoscolecidae и Isotrichidae (табл. 2; рис. 1, 2). Общая численность инфузорий в 1 мл содержимого рубца составила от 122 290 у изюбря № 3 до 420 380 у изюбря № 4. Во всех без исключения пробах обнаружены виды *Epidinium caudatum* и

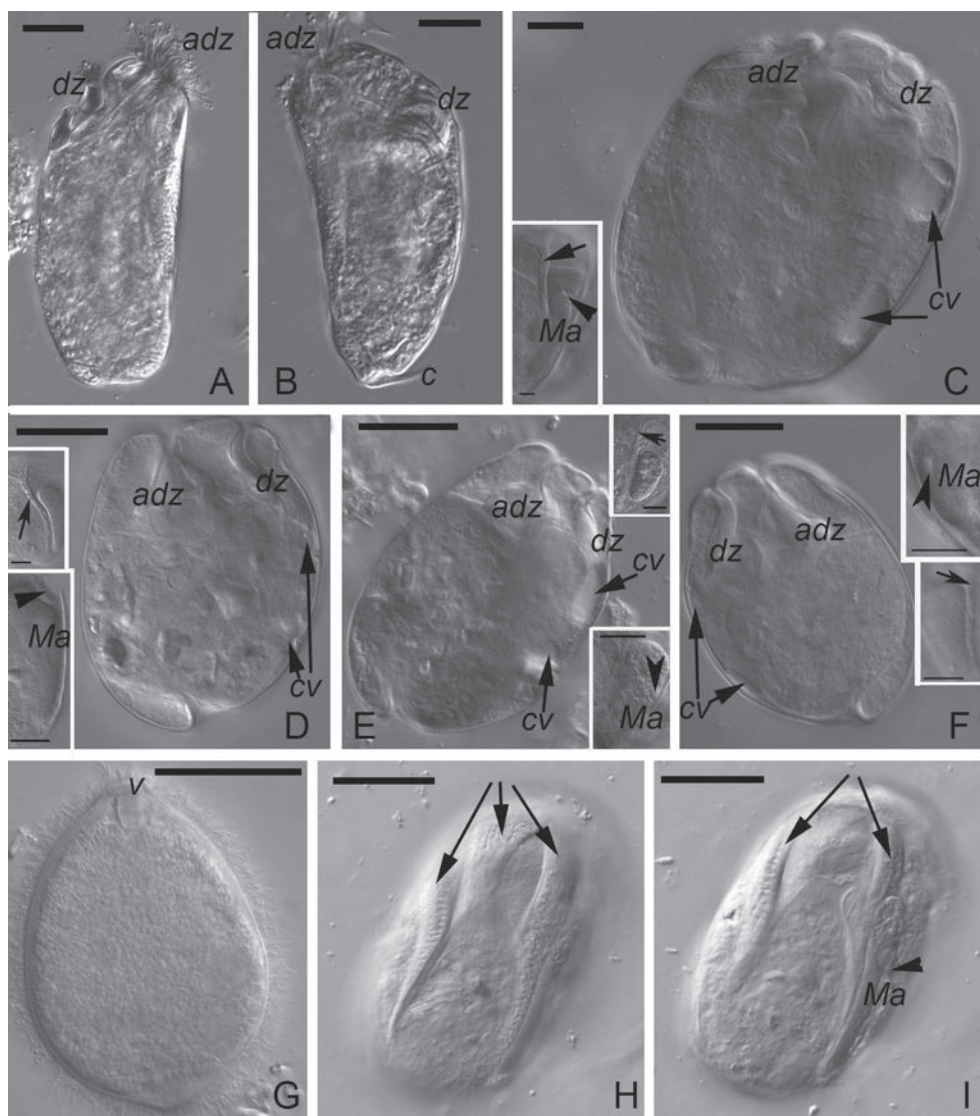


Рисунок 1. Эндобионтные инфузории из рубца благородного оленя *Cervus elaphus*: A – *Epidinium ecaudatum*; B – *E. caudatum*; C – *Eudiplodinium maggii*; D – *E. neglectum f. impalae*; E – *E. neglectum f. bovis*; F – *E. neglectum f. spectabile*; G – *Dasytricha ruminantium*; H, I – *Enoploplastron triloricaum*. dz – дорсальная зона мембранелл, adz – адоральная зона мембранелл, c – каудальный вырост, cv – сократительная вакуоль, Ma – макронуклеус, наконечник стрелки – микронуклеус, стрелка – скелетная пластина. Световая микроскопия, DIC. Масштабная линейка 20 мкм, на врезках – 10 мкм.

Figure 1. Endobiotic ciliates from the rumen of the red deer *Cervus elaphus*: A – *Epidinium ecaudatum*; B – *E. caudatum*; C – *Eudiplodinium maggii*; D – *E. neglectum f. impalae*; E – *E. neglectum f. bovis*; F – *E. neglectum f. spectabile*; G – *Dasytricha ruminantium*; H, I – *Enoploplastron triloricaum*. dz – dorsal zone of membranellae, adz – adoral zone of membranellae, c – caudal spine, cv – contractile vacuole, Ma – macronucleus, arrowhead – micronucleus, arrow – skeletal plate. Light microscopy, DIC. Scale bar 20 µm, inserts – 10 µm.

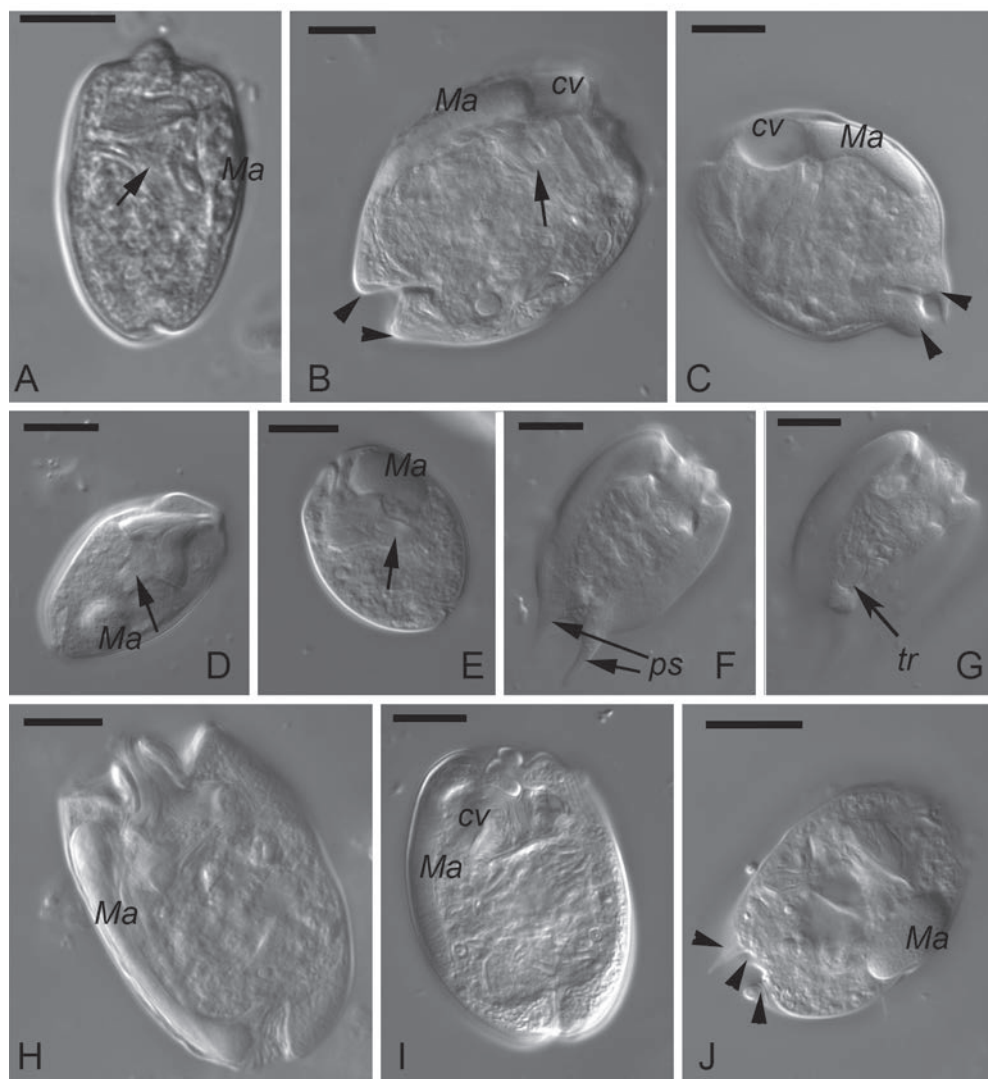


Рисунок 2. Инфузории рода *Entodinium* из рубца благородного оленя *Cervus elaphus*: A – *Entodinium simplex*; B – *E. furca* f. *dilobum*; C – *E. furca* f. *furca*; D – *E. exiguum*; E – *E. nanellum*; F, G – *E. wapiti*; H – *E. longinucleatum*; I – *E. dubardi*; J – *E. caudatum*. Ma – макронуклеус, cv – сократительная вакуоль, tr – треугольный вырост на поверхности клетки, ps – заостренные выступы на заднем конце клетки, стрелка – цитофаринкс, наконечник стрелки – выступы на заднем конце клетки. Световая микроскопия, DIC. Масштабная линейка 10 мкм.

Figure 2. *Entodinium* ciliates from the rumen of the red deer *Cervus elaphus*: A – *Entodinium simplex*; B – *E. furca* f. *dilobum*; C – *E. furca* f. *furca*; D – *E. exiguum*; E – *E. nanellum*; F, G – *E. wapiti*; H – *E. longinucleatum*; I – *E. dubardi*; J – *E. caudatum*. Ma – macronucleus, cv – contractile vacuole, tr – triangular rib on the cell surface, ps – posterior spines, arrow – cytopharynx, arrowhead – posterior lobes. Light microscopy, DIC. Scale bar 10 μ m.

Таблица 1. Условия отбора проб содержимого рубца изюбрей *C. elaphus xanthopygus* Milne-Edwards, 1867 из Приморского края (пробы 1–10) и марала *C. elaphus sibiricus* Severtzov, 1873 из Республики Алтай (проба 11)
Table 1. Conditions for the selection of rumen contents samples of the red deer *C. elaphus xanthopygus* Milne-Edwards, 1867 from Primorsky Krai (samples 1–10) and *C. elaphus sibiricus* Severtzov, 1873 from of the Altai Republic (sample 11)

Показатели	Пробы										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Дата сбора	28.05. 2015	11.07. 2016	22.03. 2019	02.12. 2019	02.12. 2019	03.07. 2020	17.09. 2020	24.09. 2020	15.12. 2020	26.12. 2020	22.04. 2021
Пол, возраст оленей	Самец, 1 г.	Самка, взр.	Самец, 2 г.	Самка, взр.	Самка сеголетка	Самка, 2 г.	Самка взр.	Самец взр.	Самец, 3 г.	Самец сеголетка	
Условия хранения материала	Несколько часов	5–6 часов	Сутки охлажд.	20 часов охлажд.	20 часов охлажд.	4 часа охлажд.	Несколько часов	2–3 часа	1 час	12 часов	12 часов охлажд.
Место сбора	Терней-ский р-н	Терней-ский р-н	Терней-ский р-н	Терней-ский р-н	Терней-ский р-н	Терней-ский р-н	Терней-ский р-н	Ольгин-ский р-н	Терней-ский р-н	Терней-ский р-н	Ондугай-ский р-н

Таблица 2. Виды и формы эндоблонтных инфузорий, обнаруженные в рубце азиатских полдивов благородного оленя *Cervus elaphus* Linnaeus, 1758 – изюбрей *C. elaphus xanthopygus* Milne-Edwards, 1867 из Приморского края (пробы 1–10) и марала *C. elaphus sibiricus* Severtzov, 1873 из Республики Алтай (проба 11)

Table 2. Species and forms of endobiotic ciliates found in the rumen of the Asian subspecies of the red deer *Cervus elaphus* Linnaeus, 1758 – red deer *C. elaphus xanthopygus* Milne-Edwards, 1867 from Primorsky Krai (samples 1–10) and *C. elaphus sibiricus* Severtzov, 1873 from of the Altai Republic (sample 11)

Род, вид, форма	Пробы										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Entodinium</i> Stein, 1859											
<i>E. caudatum</i> Stein, 1859	+++	+++	++	++	++	+	+	+	++	++	++
<i>E. dubardi</i> Buisson, 1923	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++

[illegible]

E. ecaudatum, причём по численности *E. ecaudatum* всегда занимал доминирующее положение. *Eudiplodinium maggii* был выявлен в подавляющем большинстве проб (за исключением пробы № 2). Также в содержимом рубца всех оленей мы обнаружили инфузорий, которые согласно набору определительных признаков, могут быть отнесены к трём формам вида *Eudiplodinium neglectum* (Догель, 1929) (табл. 2).

При этом *E. neglectum f. bovis* и *E. neglectum f. spectabile* различаются преимущественно по форме клетки и макронуклеуса, главным отличием *E. neglectum f. impalae* от предыдущих двух форм является расположение микронуклеуса у переднего края макронуклеуса (рис. 1). В настоящее время эти формы часто рассматриваются в ранге отдельных видов, однако многие авторы вслед за Догелем отмечают исключительное сходство видов *E. bovis*, *E. spectabile* и *E. impalae*, что заставляет сомневаться в их валидности (Kofoid, MacLennan, 1932; Hungate, 1942; Williams, Coleman, 1992). Мы предпочитаем рассматривать исследуемых инфузорий как формы вида *Eudiplodinium neglectum*, в соответствии с определителем Догеля (1929).

В рубце оленей мы обнаружили 9 видов и форм рода *Entodinium*, при этом три вида – *E. caudatum*, *E. dubardi* и *E. exiguum* – встречались у всех исследованных особей (рис. 2). Остальные виды энтодиниумов (за исключением *E. longinucleatum* и *E. furca f. furca*) были обнаружены более чем в половине проб. У подавляющего большинства изюбрей, а также у марала в рубце были найдены инфузории *Entodinium wapiti* (рис. 2). Этот вид был описан из рубца оленя из Северной Америки – вапити *Cervus canadensis* Erxleben, 1777 и считался специфичным для данного хозяина (Dehority, 1995). В табл. 3 показаны сравнительные морфометрические данные по *E. wapiti* из изюбры (№ 7), марала (№ 11) и вапити (по: Dehority, 1995). Диапазон изменчивости инфузорий из рубца изюбры и вапити сходен, тогда как в рубце марала встречаются преимущественно крупные инфузории. Широкий размах изменчивости морфометрических признаков очень характерен для эндобионтных инфузорий, однозначно идентифицировать *E. wapiti* позволяет такой уникальный признак, как треугольный вырост на поверхности клетки.

Видовой состав инфузорий-эндобионтов у всех изюбрей из Тернейского и Ольгинского районов Приморья, а также марала из республики Алтай демонстрирует значительную степень сходства (индекс Чекановского-Серенсена 0.9). В то же время только в рубце марала был обнаружен вид *Enoploplastron triloricatum*. Интересно также отметить, что инфузории-изотрихиды *Dasytricha ruminantium* были обнаружены у марала и только двух изюбрей – матери и дочери из Тернейского района Приморья. При этом видовой состав эндобионтных инфузорий у этих двух особей оказался идентичным, что объясняется особенностями передачи эндобионтов в ряду поколений жвачных (Корнилова, 2004а).

Фауна инфузорий-эндобионтов рубца благородного оленя на территории Азии ранее не была исследована. По инфузориям из оленей этого вида из других географических регионов были ранее проведены исследования в нескольких странах Европы,

в Новой Зеландии и Австралии (Dehority, 1997). Также имеется единственная публикация, посвящённая изучению эндобийонтной фауны вапити (Dehority, 1995). Этот олень долгое время рассматривался как подвид благородного оленя и лишь сравнительно недавно был выделен в отдельный вид *Cervus canadensis* (Ludt et al., 2004; Mizzi et al., 2017). Результаты новейших исследований предполагают близость изюбря и марала к вапити с возможным объединением их в *C. canadensis* (Mackiewicz et al., 2022), однако для проведения полноценной таксономической ревизии рода *Elaphus* необходимы дополнительные исследования в этой области. В связи с этим мы в своей работе рассматриваем изюбря и марала как подвиды благородного оленя *C. elaphus*. В табл. 4 приведены сводные данные по встречаемости инфузорий разных родов в рубце оленей из разных географических регионов.

Таблица 3. Морфометрия инфузорий *E. wapiti* (без учёта каудальных отростков) из рубца изюбря (1), марала (2) и вапити (3)

Table 3. Morphometry of *E. wapiti* (without taking into account caudal projections) from the rumen of (1) red deer, (2) Altai maral, and (3) wapiti

Животное-хозяин	Длина (min–max), мкм	Средняя длина, мкм	SD	CV, %	Ширина (min–max), мкм	Средняя ширина μm	SD	CV, %	Отношение длины к ширине (min–max)	Отношение длины к ширине (среднее)	SD	CV, %
1	25.0–40.0	34.4	2.6	7.5	20.0–30.5	24.1	2.1	8.7	1.20–1.60	1.42	0.24	16.9
2	34.0–37.5	35.8	0.9	2.5	27.5–32.5	29.2	1.1	3.8	1.10–1.30	1.22	0.09	7.4
3	21.0–34.0	28.2	3.6	12.8	21.0–28.0	25.0	2.3	9.2	1.00–1.28	1.13	0.11	9.7

Примечания. 1 – изюбрь № 7; 2 – марал № 11, 3 – вапити (по: Dehority, 1995).

Число измеренных клеток у изюбря и марала – по 25, у вапити – 10.

По существующим представлениям, структура сообществ инфузорий-эндобийонтов пищеварительного тракта позвоночных определяется совокупным действием нескольких факторов (Newbold et al., 2015). Эндобийонтные инфузории характеризуются определённой специфичностью по отношению к хозяину, которая возникла в результате коэволюции партнеров в симбиотической системе. В то же время, определённое влияние на видовой состав эндобийонтов оказывают особенности питания и образа жизни хозяина, в т.ч. уровень стадности. И, наконец, возможен горизонтальный неспецифический перенос эндобийонтов между различными видами хозяев при тесном

контакте. Состав эндобионтной фауны азиатских подвидов благородного оленя (по родам инфузорий) более сходен с таковым у вапити, что может свидетельствовать в пользу их достаточно близкого родства. Хотелось бы еще раз подчеркнуть, что, согласно имеющимся данным, только у этих двух видов хозяев обнаружен вид инфузорий *E. wapiti*. Сходство видового состава сообществ инфузорий у оленей, обитающих на одной территории, может быть связано в т.ч. с возможностью тесного взаимодействия отдельных семейных групп хозяев. Для марала на Алтае характерны сезонные миграции протяженностью до 50 км, связанные со сменой зимних и летних пастбищ (Собанский, 2008). В Приморском крае среди изюбрей встречаются как оседлые, так и мигрирующие особи. У мигрирующих оленей зимние участки обитания удалены на 10–45 км от летних (Мысленков, Миквел, 2003). Во всех трёх районах отбора проб благородные олени в течение большей части года, в особенности в летний период, посещают природные солонцы (Panichev et al., 2018, 2022). На солонцах отмечается концентрация благородных оленей, одновременно их присутствует до 15 особей, они активно коммуницируют друг с другом, по очереди вылизывая грунт из одних и тех же «лизунцов» – углублений, выеденных в наиболее привлекательных для литофагии участках. На солонцах благородные олени контактируют не только между собой, но и с другими видами оленей: лосем *Alces alces* (Linnaeus, 1758) и сибирской косулей *Capreolus pygargus* (Pallas, 1771), а также пятнистым оленем *Cervus nippon* Temminck, 1838 для Ольгинского района Приморского края (Серёдкин, Паничев, 2022). Преобладание в сообществах эндобионтов видов рода *Entodinium* и довольно низкий уровень видового разнообразия инфузорий отмечены для многих видов диких жвачных, что обычно связывают с особенностями питания или образа жизни хозяина (в т.ч. низким уровнем стадности) (Williams, Coleman, 1992; Clauss et al., 2011; Корнилова и др., 2021). Так, высказывались предположения, что подобная структура сообществ инфузорий характерна для хозяев, питающихся преимущественно веточным кормом, хотя прямой взаимосвязи между рационом хозяев и видовым составом эндобионтов показано не было (Clauss et al., 2011). В связи с этим нужно отметить, что как изюбрь, так и марал летом питаются в основном травянистой растительностью и листьями древесных пород, а в зимний период переходят на древесно-веточный корм (Бромлей, Кучеренко, 1983; Собанский, 2008). Осенью изюбрь нередко потребляет жёлуди дуба и орехи корейской сосны (Шереметьев, Прокопенко, 2005).

Согласно предположению Догеля (1946) о филогении инфузорий жвачных, эволюционное формирование ветвей *Epidinium*–*Eudiplodinium* произошло у общего предка оленей и полорогих. При этом такие роды, как *Ostracodinium*, *Polyplastron*, *Ophrysoscolex* сформировались позже уже у полорогих хозяев. В связи с этим интересно отметить, что у одомашненных оленей, по сравнению с дикими особями, в целом наблюдается большее разнообразие инфузорий-эндобионтов (табл. 4). Возможно, фауна эндобионтных инфузорий европейских и австралийских оленей была обогащена за счёт более близких и частых контактов с местными видами полорогих и их одомашненными формами.

Таблица 4. Встречаемость представителей различных родов эндобийонтных инфузорий в рубце благородного оленя *Cervus elaphus* из разных географических регионов

Table 4. Occurrence of representatives of various genera of endobiotic ciliates in the rumen of the red deer *Cervus elaphus* from different locations

№	Род	Регион обитания			
		1	2	3	4
1	<i>Entodinium</i> Stein, 1859	100	88	100	100
2	<i>Diplodinium</i> Schuberg, 1888	–	75	58	–
3	<i>Eudiplodinium</i> Dogiel, 1927	100	88	100	100
4	<i>Ostracodinium</i> Dogiel, 1927	–	13	–	–
5	<i>Metadinium</i> Awerinzew & Mutafova, 1914	–	13	33	50
6	<i>Enoploplastron</i> Kofoed & MacLennan, 1932	9	13	–	50
7	<i>Elytroplastron</i> Kofoed & MacLennan, 1932	–	25	33	–
8	<i>Epidinium</i> Crawley, 1923	100	75	25	50
9	<i>Ophryoscolex</i> Stein, 1859	–	13	–	–
10	<i>Isotricha</i> Stein, 1859	–	50	67	–
11	<i>Dasytricha</i> Schuberg, 1888	27	38	–	–

Примечания. 1 – подвиды благородного оленя (изюбрь и марал) из Азии, 2 – дикие и одомашненные благородные олени из Европы (по: Dehority, 1997), 3 – благородный олень (одомашненный) из Австралии (Dehority, 1997), 4 – олень вапити из Канады (Dehority, 1995). Показано отношение (%) положительных проб к общему числу проб, прочерк – представители данного рода инфузорий не обнаружены.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке темы государственного задания 122031100260–0 (Зоологический институт РАН).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бромлей Г.Ф., Кучеренко С.П. 1983. Копытные юга Дальнего Востока СССР. М.: Наука, 305 с. [Bromley G.F., Kucherenko S.P. 1983. Kopytnye yuga Dalnego Vostoka SSSR. M., Nauka, 305 pp. (in Russian)].
- Догель В.А. 1929. Простейшие – Protozoa. Малоресничные инфузории – Infusoria Oligotricha. Сем. Ophryoscolecidae. 2. Определители по фауне СССР, издаваемые Зоологическим музеем Академии Наук. Ленинград, Изд-во Акад. наук СССР, 97 с. [Dogiel V. 1929. Protozoa. Infusores oligotriches. Fam. Ophryoscolecida. 2. Tableaux analytiques de la faune le l'URSS, publiés par le Musée Zoologique de l'Académie des sciences. Leningrad, Academie des sciences de L'URSS, 97 pp. (in Russian)].
- Догель В.А. 1946. Филогения инфузорий желудка жвачных в свете палеонтологических и эколого-паразитологических данных. Зоологический журнал 25 (5): 1162–1188. [Dogiel V. 1946. Phylogeny of ciliates from the stomach of ruminants based on paleontological, ecological and parasitological data. Zoological Journal 25 (5): 1162–1188. (In Russian)].
- Корнилова О.А. 2004а. История изучения эндобийонтных инфузорий млекопитающих. СПб., ТЕССА, 352 с. [Kornilova O.A. 2004a. History of study of endobiotic ciliates of mammalia. Saint Petersburg, TESSA, 352 pp. (in Russian)].

- Корнилова О.А. 2004б. Метод комплексного обследования фауны эндобийонтных инфузорий. В сб.: Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных. Научные труды кафедры зоологии РГПУ им. А.И. Герцена, СПб., ТЕССА, 4: 75–77. [Kornilova O.A. 2004b. The method of combined investigations of endobiotic ciliates. In: Functional morphology, ecology and life cycles of animals. Scientific proceedings of the Department of Zoology of A.I. Herzen State Pedagogical University of Russia, Saint Petersburg, TESSA, 4: 75–77. (in Russian)].
- Корнилова О.А. 2010. Определитель инфузорий, обитающих в пищеварительном тракте млекопитающих. В сб.: Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных. Научные труды кафедры зоологии РГПУ им. А.И. Герцена, СПб., ТЕССА, 10: 59–94. [Kornilova O.A. 2010. The key of identification of the ciliates from the gut of mammals. In: Functional morphology, ecology and life cycles of animals. Scientific proceedings of the Department of Zoology of A.I. Herzen State Pedagogical University of Russia, Saint Petersburg, TESSA, 10: 59–94. (in Russian)].
- Корнилова О.А., Чистякова Л.В., Серёдкин И.В., Грабарник И.П. 2021. Эндобийонтные инфузории из рубца косули сибирской *Capreolus pygargus*. Паразитология 55 (6): 466–476. [Kornilova O.A., Chistyakova L.V., Seryodkin I.V., Grabarnik I.P. 2021. Endobiotic ciliates from the rumen of the roe deer *Capreolus pygargus*. Parazitologia 55 (6): 466–476. (in Russian)].
- Мысленков А.И., Миквел Д.Г. 2003. Использование пространства изюбром на Сихотэ-Алине. В кн.: Териофауна России и сопредельных территорий. VII съезд Териологического общества, 6–7 февраля 2003 г., Москва. Материалы Международного совещания. М., 230–231. [Myslenkov A.I., Mikvel D.G. 2003. Ispolzovanie prostranstva isyubrem na Sichote-Aline. In: Teriofauna Rossiya i sopredelnyh territoriy. VII s'ezd teriologicheskogo obshchestva, 6–7 February 2003. Materialy Mezhdunarodnogo soveshanyia. M., 230–231. (in Russian)].
- Серёдкин И.В., Паничев А.М. 2022. Посещение природных зверовых солонцов копытными на Среднем Сихотэ-Алине. Млекопитающие в меняющемся мире: актуальные проблемы териологии. XI Съезд Териологического общества при РАН. Материалы конференции с международным участием. М., Товарищество научных изданий КМК, с. 312. [Seryodkin I.V., Panichev A.M. 2022. Poseshenie prirodnih zverovyh solontsov kopytnymi na srednem Sihote-Aline. In: Mlekopitaushie v menyaushemsya mire: aktualnye problem teriologii. XI sized Teriologicheskogo obsshestva pri RAN. Materialy konferencii s mezhdunarodnym uchastiem. M., Tovarishstvo nauchnyh izdaniy KMK, p. 312. (in Russian)].
- Собанский Г.Г. 2008. Звери Алтая. Часть 1. Крупные хищники и копытные. Новосибирск – М., Tovarishstvo nauchnyh izdaniy KMK, 414 с. [Sobansky G.G. 2008. Zveri Altaya. Chast 1. Krupnye hishnik i kopytnye. Novosibirsk – Moskva, Tovarishstvo nauchnyh izdaniy KMK, 414 pp. (in Russian)].
- Шереметьев И.С., Прокопенко С.В. 2005. Экология питания парнокопытных юга Дальнего Востока. Владивосток, Дальнаука, 167 с. [Sheremetyev I.S., Prokopenko S.V. 2005. Ekologiya pitaniya parnokopytnih yuga Dalnego Vostoka. Vladivostok, Dalnauka, 167 pp. (in Russian)].
- Clauss M., Müller K., Fickel J., Streich W. J., Hatt J.-M., Südekum K.-H. 2011. Macroecology of the host determines microecology of endobionts: protozoal faunas vary with wild ruminant feeding type and body mass. Journal of Zoology 283: 169–185. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2010.00759>
- Dehority B.A. 1993. Laboratory Manual for Classification and Morphology of Rumen Ciliate Protozoa. Boca Raton, FL, CRC Press Inc., 128 pp.
- Dehority B.A. 1995. Rumen Ciliates of the Pronghorn Antelope (*Antilocapra americana*), Mule Deer (*Odocoileus hemionus*), White-tailed Deer (*Odocoileus virginianus*) and Elk (*Cervus canadensis*) in the Northwestern United States. Archiv für Protistenkunde 146 (1): 29–36.
- Dehority B.A. 1997. Rumen ciliate protozoa in Australian red deer (*Cervus elaphus* L.). Archiv für Protistenkunde 148: 157–165. [https://doi.org/10.1016/S0003-9365\(11\)80252-6](https://doi.org/10.1016/S0003-9365(11)80252-6)
- Denton B., Diese I.E., Firkins J.L., Hackmann T.J. 2015. Accumulation of reserve carbohydrate by rumen protozoa and bacteria in competition for glucose. Applied and Environmental Microbiology 81: 1832–1838. <https://doi.org/10.1128/AEM.03736-14>
- Hall M.B. 2011. Isotrichid protozoa influence conversion of glucose to glycogen and other microbial products. Journal of Dairy Science 94: 4589–4602. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3878>

- Hungate R.E. 1942. The Culture of *Eudiplodinium Neglectum*, with Experiments on the Digestion of Cellulose. *Biology Bulletin* 83 (3): 303–319.
- Kofoid C.A., MacLennan R.F. 1932. Ciliates from *Bos indicus*. II. The genus *Diplodinium* Schuberg. University of California Publications in Zoology 37: 53–152.
- Ludt C.J., Schroeder W., Rottmann O., Kuehna R. 2004. Mitochondrial DNA phylogeography of red deer (*Cervus elaphus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 3: 1064–1083. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2003.10.003>
- Mizzi J.E., Lounsberry Z.T., Brown C.T., Sacks B.N. 2017. Draft genome of tule elk *Cervus canadensis nannodes*. *F1000Research* 6: 1691. <https://doi.org/10.12688/f1000research.12636.2>
- Mackiewicz P., Matosiuk M., Świsłocka M., Zachos F.E., Hajji G.M., Saveljev A.P., Seryodkin I.V., Farahvash T., Rezaei H.R., Torshizi R.V., Mattioli S., Ratkiewicz M. 2022. Phylogeny and evolution of the genus *Cervus* (Cervidae, Mammalia) as revealed by complete mitochondrial genomes. *Scientific Reports* 12(1): 16381. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20763-x>
- Newbold C.J., de la Fuente G., Belanche A., Ramos-Morales E., McEwan N.R. 2015. The role of ciliate protozoa in the rumen. *Frontiers in Microbiology* 6: 1313. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01313>
- Panichev A.M., Baranovskaya N.V., Seryodkin I.V., Chekryzhov I.Yu., Vakh E.A., Soktoev B.R., Belyanovskaya A.I., Makarevich R.A., Lutsenko T.N., Popov N.Yu., Ruslan A.V., Ostapenko D.S., Vetoshkina A.V., Aramilev V.V., Kholodov A.S., Golokhvast K.S. 2022. Landscape REE anomalies and the cause of geophagy in wild animals at kudurs (mineral salt licks) in the Sikhote-Alin (Primorsky Krai, Russia). *Environmental Geochemistry and Health* 44(3): 1137–1160. <https://doi.org/10.1007/s10653-021-01014-w>
- Panichev A.M., Seryodkin I.V., Kalinkin Y.N., Makarevich R.A., Stolyarova T.A., Sergievich A.A., Khoroshikh P.P. 2018. Development of the “rare-earth” hypothesis to explain the reasons of geophagy in Teletskoye Lake are kudurs (Gorny Altai, Russia). *Environmental Geochemistry and Health* 40: 1299–1316. <https://doi.org/10.1007/s10653-017-0056-x>
- Park T., Yu Z. 2018. Do ruminal ciliates select their preys and prokaryotic symbionts? *Frontiers in Microbiology* 9: 1710. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01710>
- Tapio I., Snelling T.J., Strozzi F., Wallace R.J. 2017. The ruminal microbiome associated with methane emissions from ruminant livestock. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 8: 7. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0141-0>
- Williams A.G., Coleman G.S. 1992. The Rumen Protozoa. *Brock/Springer Series in Contemporary Bioscience*, 371 pp. <https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2776-2>

FAUNA OF THE ENDOBIOTIC CILIATES FROM THE RUMEN OF THE RED DEER *CERVUS ELAPHUS* LINNAEUS, 1758

O. A. Kornilova, A. V. Radaev, I. V. Seryodkin, L. V. Chistyakova

Keywords: endobiotic ciliates, *Cervus elaphus*, Ophryoscolecidae, Isotrichidae

SUMMARY

Fauna of endobiotic ciliates of the red deer *Cervus elaphus xanthopygus* and of the Altai wapiti *Cervus elaphus sibiricus* in Asia was studied for the first time. In total, 14 species and 5 forms of ciliates belonging to 5 genera of Ophryoscolecidae and Isotrichidae were found. The species composition of endobiotic ciliates in all studied individuals of deer appeared to be rather similar. Most of the samples contained *Entodinium wapiti*, previously considered specific to the North American wapiti *Cervus canadensis*. The influence of different factors on the formation of a certain structure of communities of ciliates, endobionts of the rumen of the red deer *Cervus elaphus*, is discussed.

УДК 579.64:632.654

**ACARICIDAL EFFECT OF SECONDARY METABOLITES
FROM SYMBIOTIC BACTERIA *XENORHABDUS BOVIENII*
AND *X. NEMATOPHILA* OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES
ON SPIDER MITE *TETRANYCHUS URTICAE*
(TROMBIDIFORMES, TETRANYCHIDAE)**

© 2023 L. G. Danilov¹, G. P. Ivanova¹,

V. G. Kaplin^{1,*}, E. A. Varfolomeeva²

¹All-Russia Institute of Plant Protection, Pushkin, Saint Petersburg, 196608 Russia

²Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences,

Professora Popova str., 2, Saint Petersburg, 197376 Russia

*e-mail: ctenolepisma@mail.ru

Received June 18, 2022

Received in revised form January 17, 2023

Accepted January 22, 2023

In laboratory, the highest mortality rates of *Tetranychus urticae* after the use of metabolic products of symbiotic bacteria with a titer of 1×10^7 were observed in *Xenorhabdus bovienii* at 6–8 days post application (dpa) in the experiment with live and at 8 dpa of autoclaved culture (about 95%). In experiments with live and autoclaved culture with a titer of 1×10^7 , the mortality mites at 8 dpa in *X. bovienii* was almost the same, but in *X. nematophila* it was slightly higher in autoclaved culture. At 8 dpa, the efficacy of the live and autoclaved metabolic products of *Xenorhabdus bovienii* and *X. nematophila* against the spider mite with a titer of 1×10^5 was about 1.4 times lower compared to the culture with a titer of 1×10^7 . The relationship between the mortality of spider mites (%) and the exposure time (days) to bacterial metabolism products most reliably reflects by the polynomial dependence with the accuracy of approximation 0.93–1.0. In the greenhouse, the effectiveness of the bacterial metabolic products of *X. bovienii* against spider mite was highest in experiments with live culture with a titer of 1×10^8 . In experiments with live culture of *X. bovienii* with a titer of 1×10^7 (in vivo) the mortality rate of spider mites on leaves of shrub *Dracaena sanderiana* at 8 dpa increased from 84% on the ground floor to 90% on the second floor. The overall efficacy of the bacterial metabolic products of *X. bovienii* (in vivo, titer 1×10^7) against adults, larvae and nymphs of *T. urticae* on the leaves of perennial marsh grasses (*Potenderia cordata*, *Thalia geniculata* and *T. dealbata*) was about 98–99%.

Keywords: *Steinernema*, live bacterial culture, autoclaved culture, laboratory conditions, greenhouses, toxic secondary metabolites, efficiency

DOI: 10.31857/S0031184723010064; **EDN:** FJTRQQ

Introduction

Bacteria of the genus *Xenorhabdus* are symbionts of entomopathogenic nematodes (EPNs) in the genus *Steinernema*. The bacterium colonizes a specialized intestinal pocket within the infective stage of the third age nematode, which transports the bacteria between insects that are killed and consumed by the pair for reproduction. The infectious stage of the third-instar nematode, which lives in the soil without feeding, penetrates into the body of soil insects and regurgitates symbiotic bacteria that contribute to the death and digestion of the host's internal organs. Nematodes begin to feed on digested foods, turning into larvae of the fourth instar, then into males and females. Bacteria of the genus *Xenorhabdus* produce a large number of secondary metabolites that weaken the immune system of insects, causing their death, suppressing the development of other microorganisms. These include toxic peptides, amino acids, polypeptides, antimicrobial and antifungal substances with antibiotic properties (fabclavines, xenocoumacins and others). They have found wide application in plant protection against nematodes – parasites of stems and leaves, the root system of plants, their diseases and pests (Hazir et al., 2016; Dreyer et al., 2018; Eroglu et al., 2019; Abebew et al., 2022; Yüksel, 2022; Yüksel et al., 2022; Zhang et al., 2022). To protect plants from diseases and pests, three main forms of biological products containing toxic secondary metabolites of *Xenorhabdus* bacteria are used: culture fluids containing metabolites and of live (*in vivo*) or dead (*in vitro*) bacteria; cell-free culture supernatants. The cultivation of bacteria from stock cultures is initially carried out in Petri dishes on agar plates at 28°C for 24 h. One of the bacterial colonies is transferred to flasks containing sterile Tryptic Soy Broth and the flasks are incubated at 30°C and 150 rpm (revolution per minute) for 24 h. The density of bacterial culture cells is measured by a spectrophotometer. To extract the cell-free supernatants, the bacterial culture in the broth suspension is centrifuged at 20.000 revolutions per minute (rpm) for 15 min at 4°C in 50 ml Falcon tubes. The centrifuged supernatant solution is separated from the bacterial cells by passing through a 0.22 µm millipore filter. The filtrated solution is checked for the presence of bacterial cells by streaking onto NBTA agar (Hazir et al., 2016). Autoclaving at 121°C for 10 min do not influence the antibiotic activities of the cell-free cultures of *Xenorhabdus* (Fodor et al., 2010). Cell-free bacterial cultures and supernatants can be stored at 4°C for 2 weeks before use in experiments (Hazir et al., 2016). *Xenorhabdus nematophila*, *X. bovienii* and *X. szentirmaii* supernatants could be used as potential control agents against *T. urticae* (Incedayi et al., 2021). The effect of secondary metabolites of *Xenorhabdus* bacteria on plant diseases and pests has been studied mainly in laboratory conditions in Petri dishes and in pots.

Tetranychus urticae C.L. Koch, 1836 (two-spotted spider mite) is a widespread polyphagous, cosmopolitan species. It has been recorded from most countries in North, Central and South America, Europe, Asia, Africa and Australia. *T. urticae* infests about 1167 species host plants from 127 families, annuals, perennial grasses, shrubs and trees, wild and

cultivated both in field conditions and in greenhouses. The lower temperature threshold for its development is about 12°C and the upper limit for development is about 40°C, optimal temperature 26–30°C, air humidity 60–80%. The life cycle ranges from 8 days to 40 days. *T. urticae* is one of the most serious agricultural pests in the world. About 88 cultural host plants are infested by this pest, such as bean, soybean, cotton, cucumber, tomato, melon, peanut, vine, banana, papaya, corn, ornamental crops and others (Riahi et al., 2013; Migeon, Dorkeld, 2019). In most agricultural crops, the use of synthetic pesticides is the main method to control *T. urticae*. However, because environmental adverse effects of these pesticides, the development of pesticide resistance in the target pest, and potential impacts on biodiversity and Human health (Dermauw et al., 2013), alternative methods should be developed. *T. urticae* is very difficult to control with acaricides because most populations developed resistance to chemical groups after a few years of use (Cranham, Helle, 1985). In Turkey, Eroglu et al. (2019) investigated the effects of secondary metabolites produced by 6 species symbiotic bacteria of the genera *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* on different stages of *Tetranychus urticae* using cell-free bacterial supernatants in Petri dishes and in pot experiments. The number of living and dead individuals was recorded at 2, 5 and 7 day post application (dpa) of the cell-free bacterial supernatants. Depending on the bacterial supernatant, mortality was less than 4% for eggs, 46–97% for larvae, 30–96% for protonymphs, 41–92% for deutonymphs, 92–100% for adult males and 46–93% for adult females.

The purpose of our research was to evaluate the effectiveness of exposure to secondary metabolites of live and autoclaved bacterial cultures of the genus *Xenorhabdus* in laboratory conditions and in greenhouses against *Tetranychus urticae* by spraying these cultures of experimental mite-infested plants.

MATERIALS AND METHODS

The research was carried out in the Laboratory of Microbiology of the All-Russian Institute of Plant Protection and in the greenhouses of the Botanical Garden of the Institute of Botany of the Russian Academy of Sciences in March, April and May 2020 and 2021.

Cultures of symbiotic bacteria *Xenorhabdus bovienii* and *Xenorhabdus nematophila* were obtained indirectly from the nematodes by sampling the haemocoel of *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera, Pyralidae) larvae of older ages infected by nematodes *Steinernema feltiae* strain RP18-91 and *Steinernema carpocapsae* strain “agriotes” and that stored in distilled water at 5–7°C within two weeks. The pathogenicity of the two forms of symbiotic bacteria the *X. bovienii* and *X. nematophila* was compared by estimation of LD₅₀ following intrahaemocoelic injection of *Galleria* larvae. The concentration of cells in shaken, 24 h broth cultures was estimated by use of a counting slide. Each culture was then serially diluted with sterile Ringer’s solution (Akhurst, 1980).

The initial titer of 1×10^8 was taken as the maximum in the experiments. The concentration of bacterial cells with a titer of 1×10^7 and 1×10^5 was obtained by diluting the culture liquid with a titer of 1×10^8 with sterile water. Part of the resulting culture liquids were autoclaved at a tem-

perature of 121°C, pressure of 1 atmosphere for 30 min. As known, symbiotic bacteria of the genus *Xenorhabdus* produce both heat-labile and heat-stable toxins, enzymes and antimicrobials. Their heat-stable components are active after heat sterilization and can be used against different species of bacteria and pests (Inman, Holmes, 2012). In experiments against spider mites, live and autoclaved bacterial cultures were used in laboratory conditions and in greenhouses.

In the laboratory, the study of the effect of the products of the metabolism of symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes on the spider mite was carried out according to toxicological methods (Sukhoruchenko, Ivanova, 2013). The laboratory population of the spider mite was maintained in cages on bean plants (*Phaseolus vulgaris*) at a temperature of 22–24°C, relative humidity of 65–70%, photoperiod of L18: D6. The beans for the experiments were grown on water in glass jars with a volume of 0.5 l, closed with plastic lids with holes where the bean sprouts were inserted. Then the plants of bean with a height of 9–10 cm with roots and one leaf were placed in conical cones with a volume of 100 ml. Before the experiments, 20 or 25 female mites were placed on the leaf with a soft brush (depending on the size of the leaf) 2 hours before they are treated with bacterial preparations, so that the mites on the leaf began to feed. The number of mites on the leaf of bean in each experiment was the same. Then the plants with the mites were removed from the cone, carefully dipped in solutions of live or autoclaved bacterial culture with titers 1×10^5 or 1×10^7 for 3 seconds, allowed to drain excess moisture and placed back in the cones. Cones with mite-infested plants were placed on pallets with water to avoid their migration from one plant to another and kept under the above conditions of temperature, humidity and photoperiod. Control plants were dipped in water. The number of live and dead individuals of mite were recorded at 1, 4, 6 and 8 dpa (day post application) after treatment with bacterial preparations (Table 1). The replication of each experiment was 4-fold. Before the appearance of the larvae, the number of live females was counted on the leaf, and after the hatching of the larvae, the total number of individuals was calculated. In the control, female spider mites laid eggs in Petri dishes and the larvae hatched on the 5th–6th day. Mite mortality was determined taking into account changes in their number in the control according to the formula of Henderson and Tilton (1955): $E = 100 \times (1 - O_e \times C_c / O_n \times C_n)$, where: E – efficiency expressed as the percentage of pest population reduction adjusted for control;

O_e, C_c – the number of live individuals before processing in the experiment and in the control;

O_n, C_n – the number of live individuals after processing and in the control, respectively, by the accounting.

The effect of the live and autoclaved products of the metabolism of symbiotic bacteria *Xenorhabdus bovienii* of entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* with titers 1×10^7 and 1×10^8 was also tested against the spider mite in the greenhouses of the Botanical Garden of the Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences (St Petersburg) 3.05–10.05.2020, 30.03–7.04 and 12.05–20.05 2021 (Tables 2, 3). In the Leningrad region, the spider mite develops in 8–10 generations per year. With a decrease in the duration of the daylight less than 16 hours fertilized female spider mites enter winter diapause, which is observed in St Petersburg since the beginning of August. Overwintered females appear on plants in early May when the air temperature rises above 12–14°C, feed and lay eggs among the cobwebs on the underside of the leaves. In other words, during the first period of experiments on plant protection from spider mite at the end of March – the first decade

of April, when an air temperature in greenhouses was of 19–21°C, overwintered females during the egg laying period were dominated. Females lay eggs for 15–20 days. The development from an egg to an adult takes about from 7 to 20 days, depending on the air temperature. During the second period of experiments (12–20.05) at an air temperature in greenhouses of 28–32°C, all stages of spider mite development (eggs, larvae, protonymphs, deutonymphs and adults) were presented. Spraying of experimental mite-infested plants was carried out with manual sprayers Marolex Profession, 5 l. The experimental plants were represented by trees (*Bolusanthus speciosus* (Fabaceae), *Ziziphus mauritiana* (Rhamnaceae)), shrub (*Dracaena sanderiana* (Asparagaceae)) and perennial marsh grasses (*Pontederia cordata* (Pontederiaceae), *Thalia geniculata* and *T. dealbata* (Marantaceae)). Experimental plants were sprayed in two experience options: with metabolic products of live and autoclaved culture of *X. bovienii* with titers 1×10^8 and 1×10^7 in 3-fold replication in each option. The consumption of bacterial cultural liquid for spraying of experimental plants in greenhouses was about 5 l at a titer of 1×10^8 and 10–15 l at a titer 1×10^7 .

The numbers of spider mites were taken into account visually on the leaves of each experimental plant in ind./leaf in 10-fold replication before spraying and at 4, 6 and 8 dpa of spraying with bacterial preparations. The mortality of spider mites and the effectiveness of bacterial preparations against them were determined taking into account changes in their numbers in the control as well as in the laboratory conditions.

Statistical processing was performed in Microsoft Exel and Sigma Plot 12.0 programs. Biological efficiency was calculated using the Abbott's formula (Abbot, 1925), adjusted for control (Fleming, Retnakan, 1985).

Table 1. Effect of secondary metabolic products of *Xenorhabdus bovienii* on the mortality of *Tetranychus urticae* in laboratory conditions (25 females in 4-fold replication)

Symbiotic bacterium (entomopathogenic nematode)	The titer of bacterial cells, $n \times \text{ml}^{-1}$	Bacterial culture	Mortality rate of mites after application of bacterial culture, %			
			1	4	6	8
<i>Xenorhabdus bovienii</i> (<i>Steinernema feltiae</i>)	1×10^7	Live (<i>in vivo</i>)	48.0 ± 2.8	82.0 ± 2.0	94.5 ± 1.1	95.4 ± 0.7
	1×10^5		2.0 ± 2.0	33.0 ± 1.9	38.6 ± 2.8	61.4 ± 3.6
	1×10^7	Autoclaved at 121°C for 10 min	57.0 ± 1.9	89.6 ± 1.2	90.0 ± 1.3	95.1 ± 0.2
	1×10^5		26.0 ± 2.6	45.0 ± 1.9	60.7 ± 5.2	73.2 ± 2.9
<i>Xenorhabdus nematophila</i> (<i>Steinernema carpocapsae</i>)	1×10^7	<i>In vivo</i>	59.0 ± 1.9	80.0 ± 2.8	87.6 ± 1.8	85.6 ± 2.3
	1×10^5	Autoclaved	13.0 ± 2.5	40.0 ± 1.6	58.6 ± 1.2	62.4 ± 2.3
	1×10^7		25.8 ± 2.3	81.0 ± 4.1	87.6 ± 2.6	91.3 ± 2.7
	1×10^5		1.0 ± 1.0	36.0 ± 2.8	55.6 ± 2.0	72.6 ± 3.6
LSD _{0.05} (titer)			7.8	10.2	11.3	12.8
LSD _{0.05} (species of <i>Xenorhabdus</i> , titer 1×10^7)			6.5	4.2	1.6	2.8
<i>T. urticae</i> , control, ind./leaf (dish)			25	25	36.2 ± 0.4*	133.8 ± 4.9*

Notes. Air temperature 22–24°C, relative humidity 65–70%, photoperiod L18: D6.
1, 4, 6, 8 – day post application. *females and larvae.

Table 2. Effect of metabolic products of *Xenorhabdus bovienii* (titer 1×10^7) of entomopathogenic nematode (*Steinernema feltiae*) on the mortality of females *Tetranychus urticae* in greenhouse conditions (leaves in 10-fold replication on plants in 3-fold replication)

Dates, plants, bacterial culture, titer		Number of adult mites before treatment, individuals/ leaf	Mortality rate of mites after application of bacterial culture, %		
			4	6	8
3–10.05.2020					
<i>Bolusanthus speciosus</i> , <i>in vivo</i>	1 × 10 ⁸	20.0 ± 2.2	56.6 ± 2.5	84.4 ± 3.2	98.8 ± 0.8
	1 × 10 ⁷	20.1 ± 2.1	41.7 ± 3.4	59.7 ± 2.2	88.6 ± 0.5
<i>T. urticae</i> , control, ind./leaf		19.2 ± 1.4	20.0 ± 1.8	18.5 ± 1.6	19.4 ± 1.2
<i>Ziziphus mauritiana</i> , autoclaved culture	1 × 10 ⁸	19.4 ± 1.5	39.1 ± 3.2	55.6 ± 5.0	90.8 ± 2.9
	1 × 10 ⁷	21.3 ± 3.7	24.1 ± 3.5	46.5 ± 2.7	87.5 ± 2.8
<i>T. urticae</i> , control, ind./leaf		18.7 ± 1.3	19.0 ± 1.6	21.5 ± 1.5	23.4 ± 1.2
LSD _{0.05} (<i>in vivo</i> and autoclaved culture)			8.5	4.6	3.8
LSD _{0.05} (titer)			6.8	7.5	4.2
30.03–8.04.2021 (females), 1 × 10 ⁷ , <i>in vivo</i>					
<i>Bolusanthus speciosus</i> (Fabaceae)		19.5 ± 1.6	55.1 ± 3.5	86.2 ± 4.3	99.0 ± 2.2
<i>T. urticae</i> , control, ind./leaf		18.5 ± 1.2	23.2 ± 2.1	25.4 ± 2.3	28.6 ± 3.2
<i>Ziziphus mauritiana</i> (Rhamnaceae)		22.3 ± 2.0	54.3 ± 3.0	85.6 ± 2.2	98.9 ± 0.6
<i>T. urticae</i> , control, ind./leaf		19.0 ± 2.0	20.0 ± 1.8	21.5 ± 1.9	24.6 ± 1.8
<i>Dracaena sanderiana</i> (Asparagaceae)	Ground floor	20.1 ± 2.0	42.8 ± 3.1	59.7 ± 2.8	84.1 ± 1.5
	First floor	23.3 ± 2.1	51.9 ± 4.2	65.2 ± 3.1	88.0 ± 0.8
	Second floor	26.4 ± 2.3	54.5 ± 4.2	69.7 ± 3.8	90.2 ± 1.3
<i>T. urticae</i> , control, ind./leaf		23.2	20.1 ± 1.4	16.6 ± 1.2	17.3 ± 1.5
LSD _{0.05} (<i>Dracaena sanderiana</i>) (floors)		2.5	6.3	4.5	2.8
30.03–8.04.2021 (females), 1 × 10 ⁷ , autoclaved culture					
<i>Pontederia cordata</i> (Potenderiaceae)		21.4 ± 2.1	43.6 ± 3.3	47.0 ± 2.4	87.8 ± 2.8
<i>T. urticae</i> , control, ind./leaf		15.3 ± 1.5	16.8 ± 1.5	18.5 ± 1.2	18.9 ± 1.0
<i>Thalia geniculata</i> (Marantaceae)		15.1 ± 0.7	42.7 ± 4.2	47.0 ± 4.4	81.4 ± 3.5
<i>T. urticae</i> , control, ind./leaf		15.0 ± 0.9	16.5 ± 1.2	17.6 ± 0.8	18.9 ± 1.3
<i>Thalia dealbata</i>		12.4 ± 0.8	40.3 ± 2.6	56.4 ± 3.5	90.1 ± 4.2
<i>T. urticae</i> , control, ind./leaf		15.2 ± 1.1	16.3 ± 1.3	17.8 ± 1.0	19.7 ± 1.4
LSD _{0.05} (plants sprayed with bacterial culture)			1.5	4.2	3.9

Notes. Peter the Great Botanical Garden, St. Petersburg, air temperature 19–21°C, relative humidity 85–90%. 4, 6, 8 – day post application.

Statistical analyses. Analysis of variance (ANOVA) was used to assess effect of trial to determine whether there were significant differences between the experiment repeats ($P \leq 0.05$). Data are presented as means $\pm$ standard error and least significant difference ($LSD_{0.05}$). Any difference between means larger than the LSD is considered a significant result.

RESULTS

The effect of the live and autoclaved metabolic products of symbiotic bacteria *Xenorhabdus bovienii* and *X. nematophilus* entomopathogenic nematodes, respectively, *Steinernema feltiae*, and *S. carpocapsae* on the death (%) of the common spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) depending on the titer of bacterial cells (1×10^8 , 1×10^7 and 1×10^5) and the exposure time (days). 1, 4, 6 and 8 dpa in laboratory and greenhouses have been investigated (Tables 1–3). In general, the mortality rate of mites with an increase in the titer of bacterial cells in the corresponding culture fluids, as well as with an increase in the exposure time (days). At the same time, the mortality rate of females and mite larvae significantly increased in two bacterial species (*X. bovienii* and *X. nematophilus*) with an increase in the exposure time (days).

In laboratory conditions, the highest mortality rates were observed in *X. bovienii* bacteria at 6 and 8 dpa with a titer of 1×10^7 culture fluid (about 95%). The mortality mites at 8 dpa in options with live and autoclaved culture fluid with a titer of 1×10^7 in *X. bovienii* was almost the same, but in *X. nematophilus* it was 5.7% higher in autoclaved culture fluid. At 8 dpa, the efficacy of the live and autoclaved metabolic products of the bacteria *Xenorhabdites bovienii* and *X. nematophilus* against the spider mite with a titer of 1×10^5 was lower compared to the culture with a titer of 1×10^7 , respectively, by 1.3–1.6 and 1.3–1.4 times. Means of mortality rate of mites after application of bacterial culture (%) of *Xenorhabdus bovienii* and *X. nematophila* at titer 1×10^7 larger than the least significant difference is considered a significant result (Table 1). The relationship between the mortality of spider mites (%) and the exposure time (days) to bacterial metabolism products most reliably reflects mainly by the polynomial dependence with the accuracy of approximation 0.95–1.0 (Figs 1, 2). The maximum mortality of spider mites occurs the faster the higher the concentration of metabolic products of live cultures *X. bovienii* and *X. nematophila* in the preparation, in at a titer of 1×10^7 respectively on 8 and 6 dpa and autoclaved culture on 8 dpa in both species of bacteria, and at a titer of 1×10^5 more than 8 dpa later.

In the greenhouse in the first decade of May 2020, the effectiveness of the bacterial metabolic products of *X. bovienii* against spider mite was highest in experiments with live culture with a titer of 1×10^8 (Table 2). In experiments with an autoclaved culture with a titer of 1×10^8 at 8 dpa, it decreased by 8%, and with a titer of 1×10^7 by 1.1% compared with a live culture of *X. bovienii*. The average mortality rates of spider mites (%) after using live and autoclaved bacterial cultures of *X. bovienii*, with their titers of 1×10^7 and 1×10^8 exceed the least significant difference (LSD), which are considered a significant

Xenorhabdus bovienii

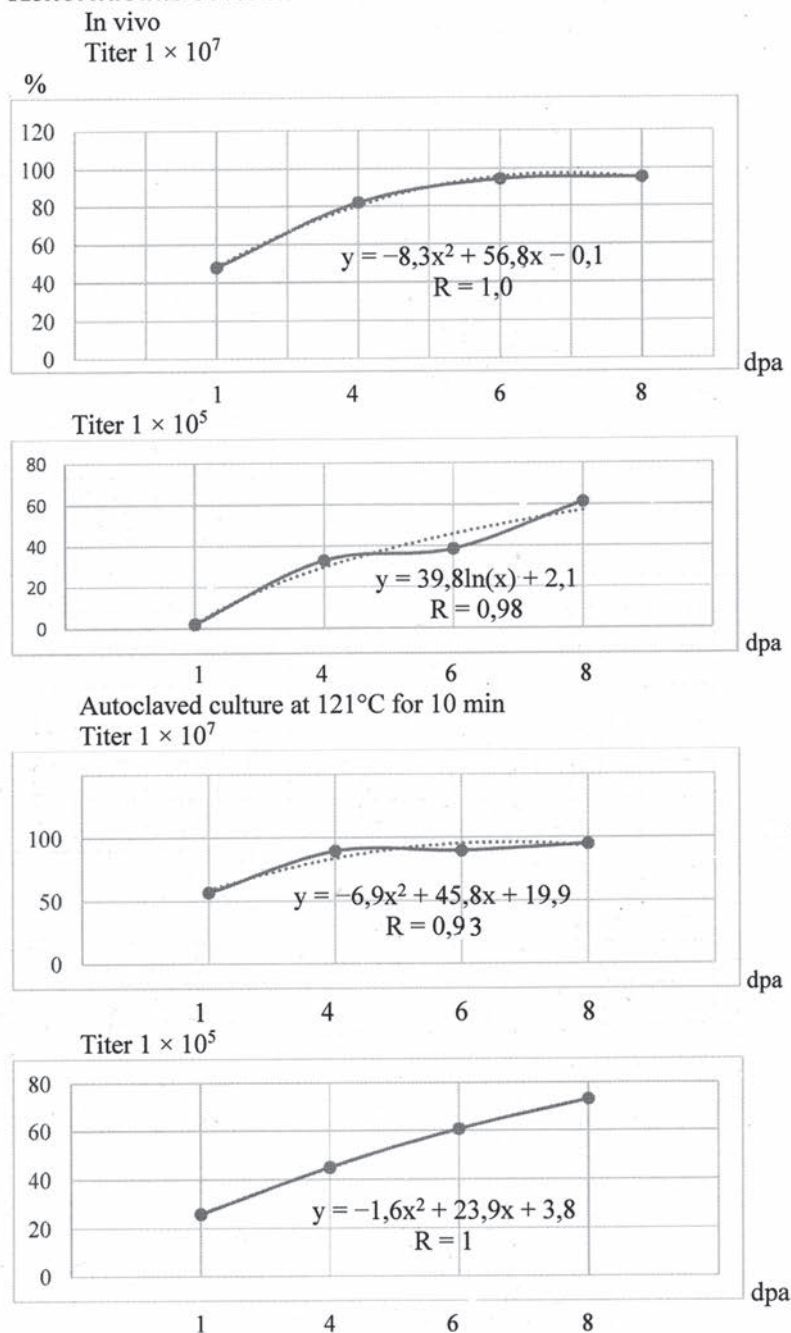


Figure 1. Efficiency of secondary metabolic products of *Xenorhabdus bovienii* on the mortality of *Tetranychus urticae* in laboratory conditions, %: dpa – day post application, R – the accuracy coefficient of the approximation.

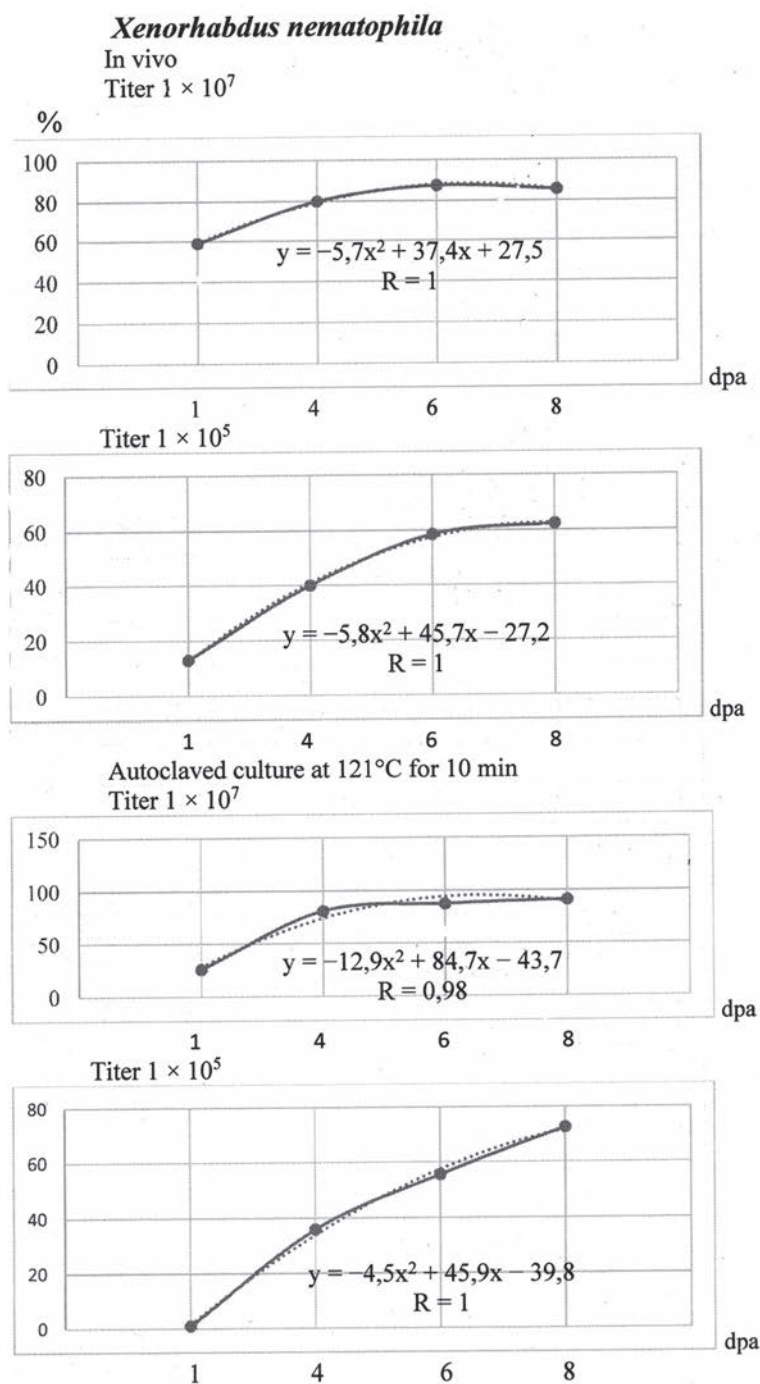


Figure 2. Efficiency of secondary metabolic products of *Xenorhabdus nematophila* on the mortality of *Tetranychus urticae* in laboratory conditions, %: dpa – day post application, R – the accuracy coefficient of the approximation.

result (Table 2). Similar experimental results were also obtained against overwintered females by the influence of the plant species on mite mortality at the end of March early April 2021. The floor arrangement of plants in the greenhouse also influenced the effectiveness of bacterial metabolism products against spider mites. In experiments with live culture fluid of *X. bovienii* with a titer of 1×10^7 , the mortality rate of spider mites on leaves of shrub *Dracaena sanderiana* at 8 dpa was about 84% on the ground floor, 88% on the first and 90% on the second floor (Table 2). In the second decade of May 2021 the overall efficacy of the bacterial metabolic products of *X. bovienii* (*in vivo*, titer 1×10^7) against adults, larvae and nymphs of *T. urticae* on the leaves of perennial marsh grasses (*Potenderia cordata*, *Thalia geniculata* and *T. dealbata*) was about 98–99% (Table 3).

Table 3. Effect of metabolic products of *Xenorhabdus bovienii* (*in vivo*, titer 1×10^7) of entomopathogenic nematode (*Steinernema feltiae*) on the mortality of *Tetranychus urticae* in greenhouse conditions (leaves in 10-fold replication on plants in 3-fold replication)

Plant	Composition of spider mite populations, %		Number of mites before treatment, ind./leaf	Mortality rate of mites after application of bacterial culture, %		
	Adults	Larvae and nymphs		4	6	8
<i>Pontederia cordata</i>	50	50	6.7 ± 0.8	62.4 ± 4.9	87.8 ± 3.4	99.1 ± 0.9
<i>Thalia dealbata</i>	100	0	9.2 ± 0.9	58.3 ± 5.4	80.2 ± 3.5	98.3 ± 1.1
<i>Thalia geniculata</i>	60	40	9.2 ± 1.2	53.2 ± 5.0	73.8 ± 6.0	98.0 ± 1.4
Average	70	30	8.4 ± 1.0	58.0 ± 5.1	80.6 ± 4.3	98.5 ± 1.1

Notes. Peter the Great Botanical Garden, St. Petersburg, date of the experiment 12.05–20.05.2021, air temperature 28–32°C, relative humidity 85–90%. 4, 6, 8 – day post application.

DISCUSSION

In the world practice, symbiotic bacterial-parasitic complexes of invasive larvae of the genus *Steinernema* and bacteria of the genus *Xenorhabdus* are widely used in the biological protection of agricultural crops mainly from soil insect pests and root-knot nematodes of the genus *Meloidogyne* in greenhouses and in the field (Lee, 2009; Lewis et al., 2001; Perez, Lewis, 2002; Lacey, Georgis, 2012 and others). Two biological preparations (Entonem and Nemabact) based on entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria against insect pests were obtained and found practical application in Russia. They were included in the State Catalog of Pesticides and Agrochemicals Approved for Use on the territory of the Russian Federation (Kaplin, 2012).

Bacteria of the genus *Xenorhabdus*, when cultivated, form a large number of secondary mainly protein toxic metabolites against other microorganisms, soil nematodes, insects and spider mite *Tetranychus urticae*. Currently, live cultures are obtained in laboratories, as well as autoclaving culture at 121°C for 10 min and cell-free supernatants obtained by centrifuging cultures at 4°C for 15 min. They are widely tested in many countries in laboratories in Petri dishes and pots against pests and plant diseases. We have investigated the

effectiveness of exposure to secondary metabolites of live and autoclaved bacterial cultures of the genus *Xenorhabdus* in laboratory conditions and for the first time in greenhouses against *T. urticae* by spraying these cultures of experimental mite-infested plants.

CONCLUSION

In our laboratory investigations, the highest mortality rates of spider mites were observed in experiments with *X. bovienii* at 8 dpa with a titer of 1×10^7 culture fluid (about 95%). The mortality mites at 8 dpa in experiments with live and autoclaved culture with a titer of 1×10^7 in *X. bovienii* was almost the same, but in *X. nematophila* it was slightly higher *in vitro*. After 8 dpa, the efficacy of the live and autoclaved metabolic products of *Xenorhabdites bovienii* and *X. nematophilus* against the spider mite with a titer of 1×10^5 was about 1.4 times lower compared to the culture with a titer of 1×10^7 .

In the greenhouses, the effectiveness of the bacterial metabolic products of *X. bovienii* against spider mite was highest in experiments with live culture with a titer of 1×10^8 . The efficiency of an autoclaved culture with a titer of 10^8 was 8%, and with a titer of 10^7 about 1% lower than in experiments with live culture. This was probably due to the negative effect of culture autoclaving at 121°C on the stability of some peptide secondary metabolites of the bacterium *Xenorhabdus bovienii*. In experiments with live culture of *X. bovienii* with a titer of 1×10^7 (*in vivo*) the mortality rate of spider mites on leaves of shrub *Dracaena sanderiana* at 8 dpa increased from 84% on the ground floor to 88% on the first floor and to 90% on the second floor. The overall efficacy of the bacterial metabolic products of *X. bovienii* (*in vivo*, titer 1×10^7) against adults, larvae and nymphs of *T. urticae* on the leaves of perennial marsh grasses (*Potenderia cordata*, *Thalia geniculata* and *T. dealbata*) was about 98–99%.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are much obliged to reviewer for valuable comments and corrections of article.

REFERENCES

- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265–267.
- Abebew D., Sayedain F.S., Edna Bode E., Bode H.B. 2022. Uncovering Nematicidal Natural Products from *Xenorhabdus* Bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 70: 498–506.
- Akhurst R.J. 1980. Morphological and functional dimorphism in *Xenorhabdus* spp. bacteria symbiotically associated with the insect pathogenic nematodes *Neoaplectana* and *Heterorhabditis*. *Journal of General Microbiology* 121 (2): 303–309. <https://doi.org/10.1099/00221287-121-2-303>
- Cranham J.E., Helle W. 1985. Pesticide resistance in Tetranychidae. In: Helle W., Sabelis M.W., (eds). *Spider Mites: Their Biology, Natural Enemies and Control* 1 (B), Elsevier, Amsterdam–New York, 405–421.

- Dermauw W., Wybouw N., Rombauts S., Menten B., Vontas J., Grbić M., Clark R.M., René Feyereisen R., Leeuwen T.V. 2013. A link between host plant adaptation and pesticide resistance in the polyphagous spider mite *Tetranychus urticae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (2): 113–122. <https://doi.org/10.1073/pnas.1213214110>
- Dreyer J., Malan A.P., Dicks L.M.T. 2018. Bacteria of the Genus *Xenorhabdus*, a Novel Source of Bioactive Compounds. *Frontiers in Microbiology* 9: 3177. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03177>
- Eroglu C., Cimen H., Ulug D., Karagoz M., Hazir S., Cakmak I. 2019. Acaricidal effect of cell-free supernatants from *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* bacteria against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal Invertebrate Pathology* 160: 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.12.004>
- Fleming R., Retnakaran A. 1985. Evaluating Single Treatment Data Using Abbot's Formula With Reference to Insecticides. *Journal of Economic Entomology* 78: 1179–1181. Available online at: <https://doi.org/10.1093/jee/78.6.1179>
- Fodor A., Fodor A.M., Forst S., Hogan J.S., Klein M.G., Lengyel K., Sáringer G., Stackebrandt E., Taylor R.A.J., Lehoczký É. 2010. Comparative analysis of antibacterial activities of *Xenorhabdus* species on related and non-related bacteria *in vivo*. *Journal of Microbiology and Antimicrobials* 2 (4): 36–46. <http://www.academicjournals.org/JMA>
- Hazir S., Shapiro-Ilan D.I., Bock C.H., Hazir C., Leite L.G., Hotchkiss M.W. 2016. Relative potency of culture supernatants of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp. on growth of some fungal phytopathogens. *European Journal of Plant Pathology*. Springer: 1–11. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-0923-9/>
- Henderson C.F., Tilton E.W. 1955. Tests with acaricides against the brow wheat mite. *Journal of Economic Entomology* 48: 157–161.
- Incedayi G., Cimen H., Ulug D., Touray M., Bode E., Bode H.B., Yaylagül E.Ö., Hazir S., Cakmak I. 2021. Relative potency of a novel acaricidal compound from *Xenorhabdus*, a bacterial genus mutualistically associated with entomopathogenic nematodes. *Scientific Reports* 11, 11253. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90726-1>
- Inman F.L., Holmes L. 2012. Effect of heat sterilization on the bioactivity of antibacterial metabolites secreted by *Xenorhabdus nematophila*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 15 (20): 997–1000. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2012.997.1000>
- Kaplin V.G. 2012. *Applied Nematology*. Samara, 384 pp. [In Russian].
- Lacey L.A., Georgis R. 2012. Entomopathogenic Nematodes for Control of Insect Pests Above and Below Ground with Comments on Commercial Production. *Journal of Nematology* 44 (2): 218–225.
- Lee Ming-Min 2009. A phylogenetic hypothesis on the evolution and interactions on *Xenorhabdus* spp. (γ -Proteobacteria) and their *Steinernema* hosts (Nematoda: Steinernematidae). Master's Theses. USA: The University of Arizona. 76 pp. <http://hdl.handle.net/10150/193414>
- Lewis E.E., Grewal P.S., Sardanelli S. 2001. Interactions between the *Steinernema feltiae*-*Xenorhabdus bovienii* Insect Pathogen Complex and the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita*. *Biological Control* 21: 55–62. <https://doi.org/10.1006/bcon.2001.0918>
- Migeon A., Dorkeld F. 2019. Spider Mites Web: a comprehensive database for the Tetranychidae. *Tetranychus urticae* Koch, 1835. Hosts. Available from <http://www.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb>
- Perez E.E., Lewis E.E. 2002. Use of entomopathogenic nematodes to suppress *Meloidogyne incognita* on greenhouse tomatoes. *Journal of Nematology* 34: 171–174.
- Riahi E., Shishehbor P., Nemati A.R., Saeidi Z. 2013. Temperature Effects on Development and Life Table Parameters of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Agricultural Science and Technology* 15: 661–672.
- Sukhoruchenko G.I., Ivanova G.P. 2013. Common spider mite. In: *Monitoring of pesticide resistance in populations of harmful arthropods. Methodological recommendations*. St. Petersburg, VISR: 14–16 [In Russian].
- Yüksel E. 2022. Biocontrol potential of endosymbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes against the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. Springer, 32: 135: 1–9. <https://doi.org/10.1186/s41938-022-00633-4>

- Yüksel E., Imren M., Ozdemir E., Bozbuğa R., Ramazan Canhilal R. 2022. Insecticidal effect of entomopathogenic nematodes and the cell-free supernatants from their symbiotic bacteria against different larval instars of *Agrotis segetum* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. Springer, 32: 54: 1–7. <https://doi.org/10.1186/s41938-022-00555-1>
- Zhang Y., Fang Wang F., Zhao Z. 2022. Metabonomics reveals that entomopathogenic nematodes mediate tryptophan metabolites that kill host insects. *Frontiers in Microbiology*: 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1042145>

АКАРИЦИДНОЕ ВЛИЯНИЕ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ СИМБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ *XENORHABDUS BOVIENII* И *X. NEMATOPHILA* ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ НЕМАТОД НА ПАУТИННОГО КЛЕЩА *TETRANYCHUS URTICAE* (TROMBIDIFORMES, TETRANYCHIDAE)

Л. Г. Данилов, Г. П. Иванова, В. Г. Каплин, Е. А. Варфоломеева

Ключевые слова: *Steinernema*, живая бактериальная культура, автоклавированная культура, лабораторные условия, теплицы, токсичные вторичные метаболиты, эффективность

РЕЗЮМЕ

В лабораторных условиях самые высокие показатели смертности *Tetranychus urticae* после применения продуктов метаболизма симбиотических бактерий с титром 1×10^7 наблюдались у *Xenorhabdus bovienii* на 6–8-й день в опыте с живой и на 8-й день с автоклавированной культуральной жидкостью (около 95%). В экспериментах с живой и автоклавированной культурой с титром 1×10^7 смертность клещей на 8-й день после применения у *X. bovienii* была почти одинаковой, но у *X. nematophila* она была немного выше в опыте с автоклавированной культурой. Через 8 дней после применения продукты метаболизма живых и автоклавированных бактерий *X. bovienii* и *X. nematophila* против паутинного клеща с титром 1×10^5 были примерно в 1.4 раза менее эффективны, чем аналогичные продукты с титром 1×10^7 . Взаимосвязь между смертностью паутинных клещей (%) и временем воздействия (дни) продуктов бактериального метаболизма наиболее достоверно отражает полиномиальная зависимость с точностью приближения 0.93–1.0. В теплицах эффективность продуктов бактериального метаболизма *X. bovienii* против паутинного клеща была самой высокой в экспериментах с живой культурой с титром 1×10^8 . В экспериментах с живой культурой *X. bovienii* с титром 1×10^7 (*in vivo*) уровень смертности паутинных клещей на листьях кустарника *Dracaena sanderiana* на 8-й день после применения увеличился с 84% на первом этаже до 90% на третьем этаже. Общая эффективность продуктов бактериального метаболизма *X. bovienii* (*in vivo*, титр 1×10^7) против взрослых особей, личинок и нимф *T. urticae* на листьях многолетних болотных трав (*Potenderia cordata*, *Thalia geniculata* и *T. dealbata*) составила около 98%, *X. nematophila* – 99%.

УДК 576.8

**IV МЕЖДУНАРОДНЫЙ ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКИЙ СИМПОЗИУМ
«СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ОБЩЕЙ
И ЧАСТНОЙ ПАРАЗИТОЛОГИИ»
(САНКТ-ПЕТЕРБУРГ, 7–9 ДЕКАБРЯ 2022 Г.)**

© 2023 г. С. А. Леонович*

Зоологический институт РАН,
Университетская наб., 1, Санкт-Петербург, 199034 Россия
*e-mail: leonssa@mail.ru

Поступила в редакцию 23.01.2023 г.

После доработки 24.01.2023 г.

Принята к публикации 24.01.2023 г.

В Санкт-Петербурге в начале декабря 2022 г. прошел очередной (IV) международный паразитологический симпозиум, организованный Министерством сельского хозяйства Российской Федерации, Санкт-Петербургским государственным университетом ветеринарной медицины, Зоологическим институтом Российской академии наук и Петровской академией наук и искусств.

На симпозиуме были заслушаны более 100 докладов, посвященных различным аспектам теоретической и прикладной паразитологии. Спектр участников был достаточно широк. Кроме ученых из Российской Федерации, были представлены паразитологи из Белоруссии (6 докладов), Армении (4 доклада), Азербайджана (3 доклада), а также из Казахстана и Руанды. Российские паразитологи представляли практически все регионы Российской Федерации (кроме Санкт-Петербурга и Москвы, в симпозиуме приняли участие ученые из Пскова, Якутска, Улан-Удэ, Воронежа, Кемерово, Петрозаводска, Екатеринбурга, Ставрополя, Тюмени, Калининграда, Ростова, Оренбурга, Рязани, Мурманска, Перми, Ижевска, Мончегорска, Костромы, Ростова-на-Дону, Сургута, Вологды, Новосибирска и Томска).

Ключевые слова: паразитология, симпозиум, Санкт-Петербург

DOI: 10.31857/S0031184723010076; **EDN:** FKEBOB

Симпозиум открылся приветствиями участникам от имени Санкт-Петербургского университета ветеринарной медицины (ректор университета, член-корреспондент РАН, доктор ветеринарных наук проф. К.В. Племяшов), Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина (зав. кафедрой паразитологии и санитарно-ветеринарной экспертизы, академик РАН, доктор вете-

ринарных наук, проф. Ф.И. Василевич), Зоологического института РАН (научный руководитель Зоологического института РАН, академик РАН, доктор биологических наук О.Н. Пугачев), Военно-Медицинской академии им. С.М. Кирова (член-корр. РАН, проф. А.В. Иванов).

Со вступительным словом выступила организатор симпозиума, зав. Кафедрой паразитологии им. В.Л. Якимова Санкт-Петербургского университета ветеринарной медицины, доктор биологических наук Л.М. Белова.

Пленарное заседание продолжилось докладом И.А. Кутырева (Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН) «Молекулярные и клеточные основы взаимоотношений паразитов и иммунной системы их хозяев: фундаментальные основы и поиск природных иммунорегуляторов для ветеринарии и медицины». В докладе были рассмотрены иммунорегуляторы, выделенные в ходе комплексного исследования морфофункциональных и биохимических аспектов адаптации плероцеркоидов цестод к воздействию иммунной системы их хозяев – рыб.

Академик РАН, проф. С.В. Енгашев, генеральный директор НВЦ «Агроветзащита» (главного спонсора симпозиума) представил фильм, в котором было рассказано и показано современное производство ветеринарных препаратов, рассказана история организации от небольшой лаборатории до современного научного центра.

Проф. Р.Т. Сафиулин (ВНИИ фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко) в докладе «Паразитарные проблемы индейководства на промышленной основе в России» рассказал об основных паразитарных заболеваниях индеек, среди этих заболеваний главную роль играют кокцидиозы, вызываемые паразитами рода *Eimeria*.

Завершилась пленарная сессия докладом проф. С.С. Козлова (ВМА им. С.М. Кирова) «Эхинококкоз – «мина замедленного действия»: чем опасны эхинококки?», в котором были рассмотрены трудности ранней диагностики заболевания из-за отсутствия иммунной реакции зараженного человека, а также современные методы безоперационного излечения от пузырчатых финн.

Секция «Гельминтозы сельскохозяйственных животных и птиц»

Доклады секции были посвящены практическим вопросам в основном ветеринарной направленности. Несколько докладов касались паразитарных болезней лошадей. Результаты эпизоотологического мониторинга таких болезней были доложены С.В. Енгашевым и М.Д. Новак (Рязанский медицинский университет). Л.Ю. Гаврильева и Л.М. Коколова рассказали о профилактике инвазионных болезней лошадей табунного содержания в Якутии. Паразитам лошадей на территории Москвы и Московской области был посвящен доклад О.А. Пановой (ВНИИП им. Скрябина),

а ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта лошадей в хозяйствах различной формы собственности Ленинградской области были исследованы Р.С. Ситниковой (СПб ГУВМ).

Ряд докладов был посвящен особенностям паразитарных заболеваний сельскохозяйственных животных в различных регионах России.

А.Б. Муромцева и А.Ю. Ефремов (Калининградский институт переподготовки кадров агробизнеса) рассказали о трематодозах крупного и мелкого рогатого скота в Калининградской области, В.И. Колесников (ВНИИ овцеводства и козоводства) ознакомил с эпизоотической обстановкой по паразитарным заболеваниям скота в Ставропольском крае. Ситуацию с фасциолезом и дикроцелиозом в Узбекистане осветил В.С. Турицин (СПб ГАУ), данные по эхинококкозу сельскохозяйственных животных в северном Зауралье привел в своем докладе М.В. Михайлов (ГАУ Северного Зауралья, Тюмень).

Несколько докладов касались общих проблем прикладной гельминтологии. В качестве примеров можно привести доклады А.В. Забровской (СПб ГУВМ) о методах определения устойчивости гельминтов к антигельминтным препаратам и доклад Е.С. Климовой (Ижевская ГСА) и М.Э. Мкртчян (СПб ГУВМ) об обсемененности почвы яйцами гельминтов.

Единственный доклад по птицам был сделан коллективом авторов из Московской Академии ветеринарной медицины (С.А. Шемякова, Н.В. Есаулова и И.И. Цепилова), касавшийся эндопаразитофауны кур в личных подсобных хозяйствах Московской области и мер борьбы с основными паразитами.

Заседание секции «**Паразиты и переносчики-клещи**» открылось докладом С.А. Леоновича (ЗИН РАН) «Эволюционное значение становления афагии у самцов иксовых клещей подсемейства Ixodinae». В докладе была обоснована гипотеза о вторичном характере афагии самцов рода *Ixodes*, переносчиков опасных трансмиссивных инфекций. Афагия развилась у ранее питавшихся самцов в ходе эволюции, способствуя сохранению способности самцов к неоднократному оплодотворению голодных и питающихся самок и, таким образом, обеспечивая эволюционный успех группы.

В докладе Е.П. Самойловой и Л.А. Григорьевой (ЗИН РАН) (докладчик Е.П. Самойлова) «Паразитарная система *Ixodes persulcatus* (Ixodinae) – *Borrelia garinii* – мелкие млекопитающие на Северо-Западе России» было показано, что инфицирование основной части голодных личинок и нимф происходит в начале сезона активности после зимовки при питании на перезимовавших инфицированных прокормителях. Именно этот период является ключевым в циркуляции (обмене между переносчиками и резервуарными хозяевами) и сохранении возбудителя в природном очаге Лайм боррелиоза на северо-западе России.

Два доклада были посвящены фауне клещей-эктопаразитов грызунов, это доклад Н.А. Никулиной (Иркутский аграрный университет им. А.А. Ежевского) «Сообщества паразитических гамазовых клещей серых полевков на территории России» и сообщение группы авторов из Сургутского государственного университета (Е.С. Сарапульцева, В.П. Стариков, О.Ю. Володина (докладчик Е.С. Сарапульцева) «Иксодовые клещи красной полевки (*Myodes rutilus*) таежной и степной зон Южного Зауралья».

В докладе А.М. Никаноровой (Калужский филиал РГАУ) «Математическое моделирование эктопаразитов-кровососов Нечерноземья РФ» была предложена математическая модель, позволяющая прогнозировать численность клещей в зависимости от среднегодовых температур, влажности, давления и некоторых других факторов. Доклад вызвал множество вопросов и замечаний.

Два доклада были посвящены иксодовым клещам Карелии (Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск). Л.А. Беспятова в докладе «Чувствительность клеща *Ixodes persulcatus* к некоторым штаммам энтомопатогенных аскомицетов: предварительное исследование» показала эффективность использования трех видов аскомицетов, вызывающих гибель клещей. Впрочем, практическое значение использования грибов в контроле численности клещей остается неясным. С.В. Бугмырин в докладе «Иксодовые клещи и переносимые ими инфекции по данным обращаемости населения в Центр гигиены и эпидемиологии в республике Карелия» обрисовал современную картину распространения клещей и инфекций в республике.

Е.Г. Волчев (Балтийский федеральный университет им. Иммануила Канта) в докладе «Иксодовые клещи в антропогенезированных ландшафтах Калининградской области и детекция в них риккетсий, патогенных для человека» показал, что характер распространения клещей сходен с их распределением в соседних районах Европы, а численность клещей в антропогенезированных районах довольно высока.

В.В. Белименко (Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко) рассказал о фенологии иксодовых клещей Оренбургской области. К сожалению, доклад не сопровождался презентацией, что несколько затрудняло восприятие количественных данных.

А.Н. Шафиев представил доклад группы авторов (А.П. Шафиев, А.Н. Токарев, С.В. Енгашев, Е.С. Енгашева (СПбГУВМ, Санкт-Петербург, и МГАВМ им. Скрябина, Москва)) об использовании нового препарата Дельцид 7,5 при хориоптозе крупного рогатого скота в хозяйствах Ленинградской области. Этот оригинальный препарат, разработанный в России, показал высокую эффективность в сравнении с импортными препаратами, использование которых в настоящее время находится под санкциями.

Секция «**Эктопаразиты и переносчики (насекомые)**» открылась докладом зав. лабораторией по изучению паразитических членистоногих ЗИН РАН проф. С.Г. Медведева «Итоги и перспективы изучения фауны блох России», в котором на основе обширного материала были выделены наиболее распространенные виды, проанализированы пути формирования современной фауны блох России.

М.А. Алиев (МГАВМ) ознакомил с результатами использования ушных репеллентных бирок для защиты крупного рогатого скота от нападения кровососущих двукрылых в Южном федеральном округе.

В.В. Агасой и В.В. Прокофьев (Псковский государственный университет) представили результаты многолетних исследований лёта слепней в Псковской области. Интенсивность лёта слепней в целом максимальна во второй декаде июля при средней температуре воздуха от +22 до +25°C и относительной влажности 50–65%. Повышение температуры и влажности приводит к снижению активности лёта слепней.

Особенностям распространения эктопаразитов и переносчиков возбудителей инвазионных инфекций в различных регионах России были посвящены сообщения Л.А. Глазуновой (ГАУ Северного Зауралья), З.Х. Терентьевой (Оренбургский ГАУ) и Н.А. Кошкиной (ВНИИ овцеводства и козоводства Северо-Кавказского федерального аграрного центра).

Доклад В.Н. Кравченко, В.П. Старикова и Д.М. Ялымовой (Сургутский университет) ознакомил с интересными данными по зараженности вшами мышей-малюток в Южном Зауралье, причем зараженность оказалась довольно высокой. Интерес присутствовавших вызвала конструкция ловушек для мышей-малюток, грызунов, вес которых не превышает 10 г

Секция «Паразитарные болезни плотоядных и человека»

На секции были представлены доклады, посвященные паразитарным заболеваниям домашних животных (собак и кошек), причем особое внимание было уделено обитателям мегаполисов. Были рассмотрены современное состояние фауны паразитов собак и кошек в отдельных мегаполисах Российской Федерации (С.В. Коняев, Институт систематики и экологии животных СО РАН) и паразитофауна кошек в приютах Санкт-Петербурга (М.В. Храмченкова, СПб ГУВМ).

Несколько докладов было посвящено паразитофауне плотоядных, выращиваемых на зверофермах, в частности, особенностям эпизоотологии отодектоза пушных зверей в зверохозяйствах Тверской области (Е.Б. Ромашова, СПб ГУВМ) и исследованию эймерий, паразитирующих в желудочно-кишечном тракте норок, методом метагеномного анализа (Ю.Е. Кузнецов, СПб ГУВМ). Особо опасные паразиты диких плотоядных Якутии и возможные пути заражения человека были рассмотрены в докладе Л.М. Коколовой и Л.Ю. Гаврильевой (Якутский НИИ сельского хозяйства).

Роль мышевидных грызунов в циркуляции гельминтозов в Нечерноземье была оценена в докладе Р.Б. Ромашовой (Воронежский заповедник), а распространение трипаносом в лабораторных колониях хомяковых – в докладе О.Г. Давыдовой (МГАВМ).

Секция «Паразитарные болезни рыб»

На секции в основном были представлены доклады, посвящённые региональным аспектам ихтиопаразитологии.

В.Б. Ромашов (Воронежский заповедник) представил данные о метацеркариях трематод карповых рыб в природных водоемах Нечерноземья, в докладе А.И. Новак (Рязанский ГМУ им. Павлова) были приведены данные о зараженности карповых рыб метацеркариями кошачьей двуустки в Рязанской области, Э.А. Сафронеев и Л.М. Коколова (Якутский центр СО РАН) привели интересные данные о зараженности пеляди в Вилюйском водохранилище.

Заражение рыб Финского залива и Ладожского озера личинками скребней было подробно рассмотрено в докладе В.Н. Воронина (СПб ГУВМ), а паразиты миксо-споридий рыб бассейна озера Байкал – в сообщении М. Батуевой (Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН).

Н.С. Беспалова из Воронежского университета рассмотрела опасность гидробионтов как источника заражения людей и животных инвазионными болезнями.

Секция «Паразиты диких животных»

На секции были сделаны интересные доклады по паразитам диких животных, например, такие, как исследование эктопаразитов серого кита (И.Ф. Белокобыльский, ВНИИРО), или данные по зараженности гельминтами диких лесных бизонов (О.Ю. Балаченкова).

Данные по гельминтофауне благородных оленей и алтайского марала из охотничьих хозяйств Тверской области (Д.Н. Кузнецов, ИПЭЭ, Москва) перекликались со сведениями об основных паразитах лосей на Костромской лосеферме (С.Н. Королева, Костромская ГСА) и сибирских горных козлов (Д.С. Чупрак, СПб ГУВМ).

Описание фауны эктопаразитов – иксодовых клещей – оленьей фермы Южный Эйхвальд Калининградской области было приведено в сообщении Ю.А. Виноградовой и Ю.В. Глазунова (ГАУ Северного Зауралья).

В завершающий день симпозиума состоялся конкурс школьников биологических классов и студентов младших курсов медицинских, биологических и аграрных ВУЗов – будущих паразитологов. В конкурсе приняли участие 17 учеников школ и гимназий (средние образовательные школы (СОШ): 368 (А.Я. Гунина), 703 (У.В. Кочкина, А.Д. Калинина, У.А. Иванова, М.Е. Гук, К.А. Албогачиева, Т.М. Михайлова,

Э.И. Самигуллина, А.К. Бабурин), 94 (Е.Р. Полухова), 537 (А.С. Зеленская), 569 (М.К. День-добренько, ЦО Кудрово (С.Г. Шаршукова), 641 (Л.А. Верина), 532 (Е.С. Лебедева, А.Д. Степановская), гимназии 610 (А.О. Гаянова, Л.Н. Бирюкова) и Гатчинского Лицея № 3 (О.А. Машковцева) и 6 студентов.

Круглый стол «**Инновационные методы и подходы к анализу паразитологического материала**» касался проблем диагностики (А.М. Иванов, С.С. Козлов, С.В. Шишканова, О.А. Логинова) и завершил работу симпозиума.

Хочется отметить, что все расходы по проведению симпозиума взял на себя основной спонсор – холдинг АГРОВЕТЗАЩИТА. Участники симпозиума не оплачивали членский взнос, каждый рабочий день симпозиума всем участникам был предоставлен бесплатный обед, также бесплатным был традиционный товарищеский ужин.

IV INTERNATIONAL PARASITOLOGICAL SYMPOSIUM
“MODERN PROBLEMS OF GENERAL AND PRIVATE PARASITOLOGY”
(ST. PETERSBURG, DECEMBER 7–9, 2022)

S. A. Leonovich

Keywords: parasitology, symposium. St. Petersburg

SUMMARY

The fourth regular international parasitological symposium, organized by the Agricultural Ministry of Russian Federation, St. Petersburg state university of veterinary medicine, Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, and Peter the First Academy of sciences and arts has been held in St. Petersburg in early December. More than 100 communications devoted to different aspects of general and private parasitology were presented. The spectrum of participants was rather wide. Together with participants from Russian Federation, parasitologists from Belarus (6 communications), Armenia (4 communications), Azerbaijan (3 communications), and also from Kazakhstan and Rwanda took part in the symposium. Russian parasitologists represented virtually all the regions of Russian Federation (together with Moscow and St. Petersburg, colleagues from Pskov, Yakutsk, Ulan-Ude, Voronezh, Kemerovo, Petrozavodsk, Ekaterinburg, Stavropol, Tumen, Kaliningrad, Rostov, Orenburg, Ryazan, Murmansk, Perm, Izhevsk, Monchegorsk, Kostroma, Rostov-on-Don, Surgut, Vologda, Novosibirsk, and Tomsk talked at the symposium.

ПОТЕРИ НАУКИ

ДУБИНИНА ЕЛЕНА ВСЕВОЛОДОВНА

12.06.1937 – 27.12.2022

© 2023 г. С. В. Миронов*, С. Г. Медведев

Зоологический институт РАН,
Санкт-Петербург, Университетская наб., 1, Санкт-Петербург, 199034 Россия
*e-mail: Sergei.Mironov@zin.ru



DOI: 10.31857/S0031184723010088; EDN: FKKKMV

27 декабря 2022 г. на 86 году жизни скончалась ведущий научный сотрудник Зоологического института РАН, кандидат биологических наук, Елена Всеволодовна Дубинина.

Елена Всеволодовна Дубинина родилась 12 июня 1937 г. в городе Ленинграде в семье известных ученых-биологов, профессора В.Б. Дубинина и М.Н. Дубининой. Еще в школьные годы, под влиянием родителей она увлеклась биологией и познакомилась со многими разделами будущей специальности. В 1961 г. Елена Всеволодовна окончила Биолого-почвенный факультет Ленинградского государственного университета по специальности зоология и в том же году была принята на должность лаборанта в Зоологический институт АН СССР, в котором проработала более 60 лет. С 1964 по 1968 г. Е.В. Дубинина обучалась в аспирантуре ЗИН РАН по специальности паразитология и в 1972 году защитила кандидатскую диссертацию по волосатым клещам грызунов СССР и их адаптациях к хозяевам.

Наиболее длительный и плодотворный период научной деятельности Елены Всеволодовны протекал в лаборатории паразитологии, где она проработала более 35 лет. С 1999 г. она перешла в лабораторию молекулярно-генетической систематики, а с 2021 г. работала в лаборатории эволюционной геномики.

Е.В. Дубинина – высококвалифицированный специалист-акаролог, широко известный в России и за рубежом. Область научных интересов Елены Всеволодовны многогранна и неуклонно расширялась в процессе ее научного роста. Начальный этап ее исследований был в основном посвящен изучению фауны, систематики и экологии различных групп паразитических акариформных клещей, связанных с млекопитающими, – чесоточным, волосным и демодекозным. В дальнейшем ее научный интерес переключился на «аллергенных клещей» комплекса домашней пыли, их выявление, диагностику и профилактику вызываемых ими заболеваний. Еленой Всеволодовной были опубликованы брошюра по «Методы изучения и диагностике клещей пыли жилищ человека (1977)» и «Методические рекомендации» к исполнению службами Санэпиднадзора Санкт-Петербурга (1998).

Последнее 15 лет основное направление исследований ее – экологический мониторинг популяций иксодовых клещей, изучение биоразнообразия и диагностика возбудителей различных природноочаговых инфекций, переносимых иксодовыми клещами.

Научное наследие Елены Всеволодовны насчитывает более 320 научных публикаций, в том числе 140 тезисов докладов, 8 методических брошюр и монографий. Под руководством Е.В. Дубининой были успешно защищены 3 кандидатские диссертации и 3 дипломные работы. Она руководила или была основным исполнителем в 6 Российских международных проектах (грантах).

В течение восьми лет, с 1988 по 1996, Е.В. Дубинина осуществляла ответственную работу Ученого секретаря Зоологического института РАН. В начале 90-х годов Елена Всеволодовна явилась одним из инициаторов создания российского акарологического журнала – *Asagira*, который издается уже более 30 лет.

Е.В. Дубинина снискала искреннее уважение и почет своих коллег по работе.

Светлая память о Елене Всеволодовне навсегда сохранится в сердцах ее друзей и коллег!

IN MEMORIAM

DUBININA ELENA VSEVOLODOVNA

12.06.1937–27.12.2022

S. V. Mironov, S. G. Medvedev

ПОТЕРИ НАУКИ
МИТЕНЕВ ВАЛЕНТИН КЕЛЬСИЕВИЧ
03.05.1929–23.11.2022

© 2023 г.

Редколлегия журнала «Паразитология»*,
МОО «Паразитологическое общество»**,
коллектив Полярного филиала ФГБНУ «ВНИРО»
(ФГБНУ «ПИНРО» им. Н.М. Книповича)***

*e-mail: *Parazitologiya@zin.ru*

**e-mail: *parsoc@zin.ru*

***e-mail: *pinro@vniro.ru*



DOI: 10.31857/S003118472301009X; **EDN:** FKNCBN

23 ноября 2022 г. на 94 году жизни скончался известный российский зоолог и паразитолог, старейший сотрудник Полярного научно-исследовательского института морского рыбного хозяйства и океанографии им. Н.М. Книповича (ПИНРО) Валентин Кельсиевич Митенев, доктор биологических наук, Заслуженный работник рыбного хозяйства Российской Федерации. Ветеран труда РФ, мудрый наставник молодежи.

Валентин Кельсиевич родился в деревне Вымол, Кич-Городецкого района Вологодской области в семье крестьян. Отец, Кельсий Анисимович Митенев, работал животноводом в колхозе. Мать, Анна Осиповна, – рядовая колхозница. Валентин был последним, девятым ребенком в многодетной семье Митеневых.

Путь Валентина Кельсиевича в науку был непростым. После обучения в школе юнг и службы на сторожевых кораблях Балтийского ВМФ (до 1949 г.) он заканчивает среднюю школу, попутно освоив несколько рабочих специальностей. В 1952 г. посту-

пает в Петрозаводский госуниверситет, а затем в ассистентуру при кафедре зоологии и дарвинизма, где ассистировал профессору С.В. Пигулевскому в учебном процессе. Проводил практические занятия по паразитологии со студентами медицинского факультета и по зоологии беспозвоночных со студентами биологического отделения. Получил квалификацию «биолог-паразитолог».

С 1966 г. и до ухода на заслуженный отдых Валентин Кельсиевич работал в Полярном НИИ морского рыбного хозяйства и океанографии (ПИНРО, г. Мурманск), куда был приглашен с места своей предыдущей работы на Кончозерской биостанции Петрозаводского госуниверситета. С тех пор В.К. навсегда связал свою научную и трудовую деятельность с Кольским Севером. В пределах Мурманской области исследованиями по фаунистике, экологии, систематике, зоогеографии и другим вопросам ихтиопаразитологии были охвачены все крупнейшие реки региона, озера и водохранилища. Изучена паразитофауна всех представителей аборигенной ихтиофауны и интродуцированной горбуши. Причем исследования и сбор паразитологического материала проводили исключительно в полевых экспедиционных условиях. Собранный обширный материал позволил Валентину Кельсиевичу подготовить и защитить кандидатскую (1973 г., ГоснНИОРХ, Ленинград) «Паразитофауна рыб пресноводных водоемов Кольского полуострова» и докторскую (2000 г., МГУ им. М.В. Ломоносова) «Паразиты рыб Кольского Севера» диссертации. Несомненно, В.К. являлся одним из ведущих специалистов в области ихтиопаразитологии в нашей стране. Его вклад в изучение паразитов рыб субарктических акваторий уникален. В.К. Митенев хорошо известен отечественным и зарубежным паразитологам как автор и соавтор многочисленных (около 200) публикаций, в том числе шести монографий, затрагивающих актуальные проблемы экологической паразитологии рыб в водах Заполярья: «Паразиты рыб Кольского Севера» (1997), «Паразиты карповых рыб Cyprinidae Кольского Севера (фауна, экология, зоогеография)» (2000), «Паразитические простейшие пресноводных рыб Кольского Севера» (2002), «Паразиты сиговых рыб Кольского Севера (фауна, экология, зоогеография)» (2003), «Паразиты лососевых рыб Мурманской области» (1997) (совместно с А.Б. Карасевым) и «Паразиты рыб водоемов Мурманской области: систематический каталог» (1999) (совместно с Б.С. Шульманом).

Результаты его исследований вошли в фундаментальные сводки и определители по фауне СССР (России).

Благодаря глубоким фундаментальным знаниям и научному азарту, умению определить стратегию исследований и повести за собой сотрудников, упорству и целеустремленности, Валентин Кельсиевич создал (1973 г.) уникальное в своем роде на Крайнем Севере научное подразделение – лабораторию паразитологии рыб (ныне лаборатория аквакультуры и болезней гидробионтов) – форпост эколого-паразитологических рыбохозяйственных исследований в регионе. Заложены основы планомерных паразитологических исследований пресноводных и проходных рыб Северо-восточной Фенноскандии (в пределах Мурманской области), морских промысловых объектов Баренцева и Норвежского морей, северной Атлантики, что отразилось на современном уровне стратегии и тактики эколого-паразитологических и прикладных исследований гидробионтов северного рыбохозяйственного бассейна.

Имея многолетний опыт исследовательской и административной работы, В.К. уделял большое внимание профессиональной подготовке специалистов рыбохозяйственной отрасли. Здесь, в кузнице научных кадров с богатыми традициями и потенциалом, под его чутким научным руководством формировалось мировоззрение молодых ученых и студентов-практикантов из многих ВУЗов страны (Ленинградского, Петрозаводского, Пермского университетов, Калининградского технического института рыбной промышленности и других). В созданной им лаборатории паразитологии выросли и возмужали два поколения исследователей-учеников, среди которых ныне три доктора и шесть кандидатов биологических наук, большинство из которых – сотрудники Полярного института.

Валентин Кельсиевич Митенев, как Человек и Ученый, обладал уникальной харизмой. Добрая память, всеобщее глубокое уважение и чувство благодарности навсегда сохранятся в душах и сердцах его учеников и коллег-паразитологов.

IN MEMORIAM

MITENEV VALENTIN KEL'SIEVICH

03.05.1929–23.11.2022

Editorial Board of «Parazitologia», Society of Parasitologists belongs to the Russian Academy of Sciences, Staff of the Polar branch of the FSBSI “VNIRO”
(«PINRO named after N.M. Knipovich»)