

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИДОВ
ТРЕМАТОД ПЛАНОРБИДНЫХ МОЛЛЮСКОВ (MOLLUSCA: PULMONATA)
ЗАПОВЕДНИКА «ПРИВОЛЖСКАЯ ЛЕСОСТЕПЬ»**

А. О. Свинин¹, А. Ю. Иванов², И. В. Башинский³, О. А. Ермаков²

¹ Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия

² Пензенский государственный университет, Пенза, Россия

³ Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова, Москва, Россия
ranaesc@gmail.com

Исследование биоразнообразия трематод, паразитирующих на личиночных стадиях у планорбидных моллюсков (семейство Planorbidae согласно [Albrecht et al., 2007]), проведено в Чехии [Faltynkova et al., 2007], Белоруссии [Акимова и др., 2011], Азербайджане [Манафов, 2015]. В России трематодофауна моллюсков обследована в Ленинградской области [Атаев, 2014], Восточном Закамье [Шакурова, Нуретдинов, 2016], Камчатки [Буторина, Синебокова, 1987] и ряде других территорий. Определение церкарий проводилось преимущественно по морфологии. Однако иногда виды трематод сложно идентифицируются по морфологическим признакам и оказываются неопределенными [Faltynkova et al., 2007, table 3], что может быть частично решено сочетанием классических методов, основанных на изучении морфологии, и молекулярно-генетических. В данной работе применена молекулярно-генетическая идентификация церкарий трематод двух видов планорбидных моллюсков *Planorbarius corneus* L. (1758) и *Planorbis planorbis* L. (1758) из водоемов Островцовской лесостепи по маркерам 28SrRNA и ITS2.

С этой целью были отловлены моллюски посредством ручного сбора и гидробиологическим сачком с июля по сентябрь 2018 года в открытых и лесных старицах, а также в бобровых прудах на реке Южной на территории участка «Островцовская лесостепь» (52°48'55" с. ш. 44°27'33" в. д.) Государственного природного заповедника «Приволжская лесостепь» (Пензенская область, Россия). Определение моллюсков проведено по определителю беспозвоночных [Старобогатов и др., 2004]. Всего обследовано 405 роговых катушек, *Pl. corneus*, и 66 катушек *P. planorbis*. В дальнейшем была проведена высадка улиток в небольшие стеклянные емкости объемом 50 мл рядом с источником света: лампа накаливания 60 Вт установлена на расстоянии не менее 20 см [Faltynkova et al., 2007]. Выход церкарий происходил в течение 1–2 часов после этого; была проведена также повторная высадка улиток для проверки результатов. Изначальное определение церкарий проводилось по морфологии [Combes, 1980; Faltynkova et al., 2007]. Церкарии были зафиксированы в 70° этаноле. В качестве диагностических маркеров выбраны 28SrRNA и ITS2, представленные в «GeneBank» (www.ncbi.nlm.nih.gov) для многих видов трематод Волжского бассейна. Мы использовали праймеры для 28SrRNA и ITS2, а также следовали методам выделения ДНК и проведения ПЦР, приведенным в работе В. В. Ткача с соавторами [Tkach et al., 2003]. Процедура идентификации с известными в «GeneBankNCBI» нуклеотидными последовательностями проведена с помощью алгоритма BLAST.

В ходе исследований было установлено, что у *Pl. corneus* на личиночных стадиях паразитируют следующие виды трематод: *Echinostoma spiniferum* (La Valette, 1855) *sensu* Nasincova (1992), *Tylodelphys excavata* (Rudolphi, 1803) Szidat, 1935, *Rubinstrema exasperatum* (Rudolphi, 1819), *Bilharziella polonica* (Kowalewsky, 1895) Looss, 1899, *Notocotylus ephemera* (Nitzsch, 1817) и *Haematoloechus asper* (Looss, 1899). У катушки *P. planorbis* паразитировали трематоды *Echinostoma miyagawai* Ishii, 1932, *Echinoparyphium* sp., возможно, *E. pseudorecurvatum* Kiselieneet Grabda-Kazubaska, 1990, *Paralepoderma cloacicola* (Lühe, 1909) Dollfus, 1950, *Notocotylus ephemera* и *Diplodiscus subclavatus* (Pallas, 1760) Diesing, 1836. Мы впервые получили новые последовательности 28SrRNA и ITS2 для *Echinostoma spiniferum*, *Notocotylus ephemera*, только ITS2 для *Diplodiscus subclavatus*, *Paralepoderma cloacicola* и *Rubinstrema exasperatum*.

Всего было отмечено три случая двойной инвазии. У *Pl. corneus* найдена ситуация, когда *Rubinstrema exasperatum* встречалась вместе с *Tylodelphys excavata* или *Notocotylus ephemera*. Для *P. planorbis* отмечено сосуществование *Diplodiscus subclavatus* и *Paralepoderma cloacicola*.

В таблице представлены предварительные данные по встречаемости видов трематод в двух видах моллюсков «Островцовской лесостепи» с июля по сентябрь 2018 года. Наиболее массовыми видами оказываются для *Pl. corneus* — *Rubinstrema exasperatum* (22,0 %) и *Notocotylus ephemera* (3,5 %), для *P. planorbis* можно выделить в числе наиболее часто паразитирующих видов *Echinostoma miyagawai* (9,1 %) и *Paralepoderma cloacicola* (4,5 %).

Прежние исследования [Свинин и др., 2018] доказали наличие у головастика озерной лягушки метациеркарий *Macrodera longicollis* (Abilgaard, 1788) Lühe, 1909, обычно паразитирующей у *P. planorbis*. Таким образом, список видов при индивидуальном высаживании моллюсков оказывается неполным, что может быть связано с сезоном проведения исследований либо недостаточно репрезентативной выборкой улиток.

Встречаемость видов трематод в двух видах моллюсков *Planorbis planorbis* и *Planorbarius corneus*, населяющих водоемы участка «Островцовская лесостепь» заповедника «Приволжская лесостепь»

Виды	<i>Planorbis planorbis</i> (n = 66)	<i>Planorbarius corneus</i> (n = 405)
<i>Echinostoma miyagawai</i>	6 (9,1 %)	–
<i>Echinostoma spiniferum</i>	–	1 (0,2 %)
<i>Echinoparyphium</i> sp.	2 (3,0 %)	–
<i>Haematoloechusasper</i>	–	3 (0,7 %)
<i>Diplodiscus subclavatus</i>	1 (1,5 %)	–
<i>Notocotylus ephemera</i>	2 (3,0 %)	14 (3,5 %)
<i>Rubensrema exasperatum</i>	–	89 (22,0 %)
<i>Paralepoderma cloacicola</i>	3 (4,5 %)	–
<i>Macrodera longicollis</i>	+	–
<i>Bilharziella polonica</i>	–	7 (1,7 %)
<i>Tylodelphys excavata</i>	–	5 (1,2 %)
Всеговидов	6	6

В ряде случаев ответная реакция иммунной системы улиток могла справиться с трематодозами. Так, из четырех улиток *Pl. corneus*, в августе имевших заражение *Tylodelphys excavata*, через три месяца (в ноябре) продуцировала церкарий лишь одна; их многократное повторное высаживание в декабре не привело к выходу церкарий, а вскрытие в январе выявило инвазии. В этой связи для полного отображения видовой динамики и длительный многолетний мониторинг местообитания.

Таким образом, на данный момент уланорбидных моллюсков «Островцовской лесостепи» выявлено 11 видов трематод, десять из которых были отмечены на стадии церкарий и один найден ранее на стадии метацеркарий у головастиков озерной лягушки. Из них эпидемиологическое и эпизоотическое значение имеют: *Notocotylus ephemera*, вызывающий нотокотилидоз у птиц, в том числе домашней водоплавающей птицы; *Bilharziella polonica*, вызывающей бильхарциеллез у птиц; виды рода *Echinostoma*, вызывающие эхиностоматидозы у птиц и млекопитающих [Кириллов и др., 2012]. Новые последовательности могут быть использованы в будущей молекулярно-генетической диагностике трематодозов.

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 18-34-00059, а также выполнены в рамках базовой части государственного задания ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» в сфере научной деятельности на 2017–2019 гг. (проект 6.7197.2017/БЧ).

Литература

- Атаев Г. Л. 2014. Новые данные о зараженности моллюсков *Planorbarius corneus* (Pulmonata) трематодами в Вырицком водохранилище на реке Оредеж // Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных. Т. 14, № 1. С. 94–97. Акимова Л. Н., Шималов В. В., Бычкова Е. И. 2011. Видовое разнообразие личинок трематод брюхоногих моллюсков водоемов Беларуси // Паразитология. Т. 45, № 4. С. 287–305. Буторина Т. Е., Синебокова М. Б. 1987. К фауне личинок трематод из пресноводных моллюсков Камчатки // Гельминты и вызываемые ими заболевания. Владивосток: ДВНЦ АН СССР. С. 66–77. Кириллов А. А., Кириллова Н. Ю., Чихляев И. В. 2012. Трематоиды наземных позвоночных Среднего Поволжья. Тольятти: Кассандра. 329 с. Манафов А. А. 2015. Экологические особенности формирования трематодофауны моллюсков бассейна Средней Куры в пределах Азербайджана // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія: біологія. 25. С. 275–284. Свищин А. О., Иванов А. Ю., Башинский И. В., Ермаков О. А. 2018. Молекулярно-генетическая диагностика метацеркарий трематод озерной лягушки из заповедника «Приволжская лесостепь» по маркерам 28S rRNA и ITS2 // Труды центра паразитологии. Т. 50. Биоразнообразие паразитов. М.: Товарищество научных изданий КМК. С. 232–233. Старобогатов Я. И., Прозорова Л. А., Богатов В. В., Саенко Е. М. 2004. Моллюски // Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. Т. 6: Моллюски, Полихеты, Немертины. СПб.: Наука. 526 с. Шакурова Н. В., Нуретдинов Р. П. 2016. Трематоиды пресноводных моллюсков (Pulmonata) водоемов Восточного Закавказья // Современные проблемы биологии и экологии: материалы докладов II Международной научно-практической конференции. Махачкала: ДГПУ; АЛЕФ. С. 82–84. Albrecht C., Kuhn K., Streit B. 2007. A molecular phylogeny of Planorbioidea (Gastropoda: Pulmonata): insights from enhanced taxon sampling // Zoologica Scripta. Vol. 36. P. 27–39. Combes C. 1980. Atlas Mondial des Cercaires. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, Série A, Zoologie. Vol. 115. 235 p. Faltýnková A., Našincová V., Kablášková L. 2008. Larval trematodes (Digenea) of planorbis snails (Gastropoda: Pulmonata) in Central Europe: a survey of species and key to their identification // Systematic Parasitology. Vol. 69. P. 155–178. Tkach V. V., Littlewood D. T. J., Olson P. D., Kinsella J. M., Swiderski Z. 2003. Molecular phylogenetic analysis of the Microphalloidea Ward, 1901 (Trematoda: Digenea) // Systematic Parasitology. Vol. 56. P. 1–15.