ROLUL FACTORILOR ABIOTICI ÎN STABILIREA SISTEMULUI „PARAZIT-GAZDĂ” CONSTITUIT DE SPECII HIDROBIONTE

THE ROLE OF ABIOTIC FACTORS IN THE ESTABLISHMENT OF THE „PARASITE–HOST” SYSTEM FORMED BY HYDROBIONT SPECIES

CZU: 591.69:597.2/.5 **https://doi.org/10.59295/spd2025e.45**

Vadim RUSU
ORCID: 0009-0002-3758-6968
E-mail: vadim.rusu@usm.md
Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Ion TODERAȘ
ORCID: 0000-0003-1599-838X
E-mail: iontoderas@yahoo.com
Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Nadejda RAILEAN
ORCID: 0000-0001-7818-9200
E-mail: nadejdarailean@yahoo.com
Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Mihail BUDEANU
ORCID: 0000-0002-4120-4152
E-mail: mihail.budeanu@usm.md
Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Igor PÎRȚU
ORCID: 0000-0003-4537-3364
E-mail: igor.pirtu@usm.md
Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Summary. *Methods for cultivating in laboratory conditions the partners of the parasite-host system consisting of hydrobiont species of mermitids and diptera are described. The importance of some abiotic factors in the successful establishment of the respective parasitic system is highlighted.The study of interrelations in the "parasite-host" system formed by invertebrate and, therefore, ectothermic animals has a special practical and theoretical importance, because it completes the information, regarding the processes that occur in the respective systems, described so far only for vertebrate and endothermic animals. The quantitative similarity of the sets of protein amino acids of the host and the parasite, their low variability under different ecological-physiological conditions can be used in the works devoted to the ecological biochemistry of*

helminths, as a criterion of the reliability of the method of determining amino acids and even of the quality of the collected material.

Keywords*: „host parasite" system, mermithidae, abiotic factors, laboratory culture.*

INTRODUCERE

Problema centrală a parazitologiei ca ştiinţă este cea a interrelaţiilor în sistemul „parazit-gazdă".

Numeroase date experimentale demonstrează că multe organisme sunt limitate în achiziţionarea unor paraziţi noi nu numai din cauza unor factori endogeni (specificitatea), ci şi, în mare măsură, de un şir de condiţii externe, înlăturarea cărora conduce la transformarea organismului respectiv în gazdă pentru noi specii de paraziţi. Astfel, pe lângă fauna reală de paraziţi ai unei gazde există şi fauna parazitară potențială a acesteia. Aspectul practic al problemei în cauză este legat de faptul că paraziţii potenţiali reprezintă o ameninţare permanentă pentru organismul posibilei gazde. Astfel, stabilirea conexiunii „parazit-gazdă" are loc cu participarea unor factori favorabili accidentali şi a particularităţilor fiziologice şi biochimice, achiziţionate absolut independent de către diferite organisme. Actualmente, o atenţie deosebită este acordată impactului schimbării condiţiilor mediului înconjurător asupra apariţiei şi evoluţiei maladiilor parazitare. Presiunea antropică crescândă poate favoriza stabilirea unor noi conexiuni „parazit-gazdă", ale căror apariţii pot fi determinate, în primul rând, de modificarea condiţiilor mediului înconjurător. Din unghiul acesta de vedere, problema elucidării gradului de integrare a metabolismelor partenerilor în sistemele biologice „parazit-gazdă" este de o actualitate deosebită. Sunt necesare noi procedee de profilaxie şi combatere a parazitozelor, precum şi de pronosticare a evoluţiei faunei parazitare a gazdei respective. Actualitatea problemei este legată şi de apariţia, în ultimul timp, a unor noi maladii infecţioase ale omului, precum și de necesitatea crescândă de substituire a metodelor chimice de protecţie prin metode biologice de combatere a dăunătorilor [1].

Obiectul cercetărilor noastre - mermitidele (Nematoda, Mermithidae) -reprezintă o familie de nematode parazitare destul de numeroasă, dar puţin studiată. Mermitidele parazitează în reprezentanți din aproape toate ordinele de insecte, cu excepția tizanurelor, malofagienilor și anoplurelor. Acumularea unor informații noi despre mermitide contribuie la elaborarea unor noi metode de combatere biologică a insectelor dăunătoare şi la elucidarea rolului acestor paraziţi în diminuarea efectivului populațiilor de hironomide, care joacă un rol esenţial în circuitul de substanţe şi energie în bazinele acvatice dulcicole şi reprezintă resurse nutritive importante în gospodăriile piscicole. Studierea aspectelor biochimice ale interrelațiilor în sistemul „parazit-gazdă" format din animale ectoterme și nevertebrate este actuală și din cauza lipsei informaţiei în domeniul respectiv. Până acum au fost publicate lucrări cu privire la biochimia helminţilor animalelor endoterme (homeoterme) şi, într-o măsură foarte mică, ai peştilor. În acelaşi timp, studierea comparată a variabilităţii compoziţiei chimice a diferiţilor helminţi, ce parazitează la animalele ectoterme nevertebrate și la cele endoterme în diverse condiții

ecologo-fiziologice, ar putea furniza informații utile pentru elucidarea problemei teoretice referitoare la caracterul unic al mecanismelor biochimice de adaptare a helminţilor la modul de viaţă parazitar.

MATERIAL ȘI METODĂ

Studierea și cultivarea mermitidelor în condiții de laborator a fost efectuată conform metodelor descrise în literatura de specialitate [1]. Durata dezvoltării embrionare a mermitidelor a fost stabilită prin realizarea infectării provocate a hironomidelor. În acest scop, mermitidele, care părăseau corpul gazdelor în mod independent, se plasau în fiole cu apă. După copulare femelele depuneau ouăle pe fundul fiolei. Ouăle de mermitide au fost incubate la temperatura +17-+20° C. Larvele eclozate din ouăle mermitidelor erau folosite pentru infectarea gazdelor. Pentru studierea ciclurilor vitale ale partenerilor sistemului ,,gazdă-parazit" a fost întreprinsă cultivarea hironomidelor în condiţii de laborator. Pontele de ouă au fost căpătate de la femelele prinse în natură. Femelele de hironomide erau plasate în cristalizoare sau în izolatoare speciale. În calitate de suprafeţe de cultură am utilizat chiuvete metalice emailate cu înălţimea de 3,5 cm şi cu laturile, respectiv, de 45 cm şi 35 cm Chiuvetele, plasate vertical una faţă de alta, erau separate între ele prin intervale de spaţiu liber cu lăţimea de 15 cm. Pontele cu ouă ale hironomidelor erau plasate câte 6-7 în fiecare chiuvetă. Dezvoltarea ouălor de hironomide decurgea la temperatura camerei (+17-+20°C). Exemplarele de hironomide adulte erau obţinute în laborator atât din larvele colectate în natură, cât şi din materialul, cultivat din ouă de hironomide în condiţii de laborator.

Larvele de hironomide, infectate cu mermitide, erau întreţinute în chiuvete cu nămol umed la temperatura de +17-+20° C. Nămolul era în prealabil dezinfectat prin încălzire în dulapul de uscat la temperatura de +70-+80° C. Vivisecţia gazdelor se executa în prima zi după 2 ore de la infectare, apoi în zilele 2, 3, 7, 10, 15, 20. Paraziţii extraşi şi gazdele acestora au fost utilizaţi pentru analizele biochimice ulterioare.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Mermitidele au fost înregistrate la o varietate de artropode, într-o varietate de medii, infectând frecvent un procent larg din populaţiile gazdei. Studiul acestor nematozi, totuși, a evoluat lent, deoarece majoritatea observațiilor asupra mermitidelor au fost efectuate de entomologişti cu interes şi aptitudini scăzute în nematologie. De exemplu, aproape toate dintre cele mai precoce lucrări s-au limitat la observaţiile asupra incidenţei parazitismului.

Majoritatea cercetărilor pentru acest grup petrecute în ultimii ani au fost stimulate de interesul crescut pentru metodele biologice de combatere a dăunătorilor. Mermitidele atrag atenția cercetătorilor prin faptul că posedă următoarele caracteristici ale unui agent biologic reglator ideal: sunt specifice pentru una sau puţine specii de gazde; parazitarea este letală pentru gazdă; sunt relativ uşor de manipulat în condiţii de laborator; unele

specii pot fi reproduse în masă în condiţii de laborator; pot fi uşor diseminate în mediu, utilizându-se tehnica standard de pulverizare a pesticidelor; prezintă un potenţial sporit pentru răspândirea în masă, ceea ce permite atingerea unui nivel ridicat al extensivității invaziei inițiale și instalarea unui control ulterior parţial al efectivului populaţiei gazdei pentru o perioadă nedeterminată; nu prezintă pericol pentru mediu; sunt inofensive pentru organismele utile datorită ciclului lor vital.

Mermitidele, care atacă stadiile acvatice ale gazdelor, sunt similare, variind, în cea mai mare parte, după durata timpului necesar pentru realizarea ciclului vital. Stadiile invazionare (preparazitare) eclozează la stadiul de larvă de vârsta a II-a și la majoritatea speciilor înoată liber în mediul acvatic din bazinele stătătoare. La speciile, care se dezvoltă în mediul acvatic curgător, preparaziții se atașează de suprafața substratului. Caracteristicile de comportament ale mermitidelor, unice pentru sistemul „parazit-gazdă", ar putea determina contactul preparazitului cu gazda. Preparazitul este pozitiv tigmotactic și negativ geotactic, ceea ce permite nematodului de a contacta uşor cu gazda receptivă. Preparazitul are, în general, o viață scurtă și devine inert la toate temperaturile după două zile de la eclozare.

Realizând un contact reușit, preparazitul se atașează de gazdă și, prin intermediul stiletului, pătrunde în hemocelul gazdei prin orificiul făcut în cuticula acesteia. Pe parcursul acestei perioade şi al câtorva minute după aceasta, gazda pare să fie paralizată. Treptat, mobilitatea normală şi nutriţia se restabilesc. Penetrația percutanată este modul obișnuit de pătrundere a mermitidelor în corpul gazdelor. Unii autori afirmă că modalitatea cea mai răspândită de infectare este ingestia larvelor preparazitare de mermitide de către gazdele ce se nutresc prin filtrarea apei. Prin penetrarea pasivă a larvelor invazionare în urma ingestiei s-ar explica atestarea mermitidelor în gastropode, gamaride şi alte gazde. Totuși, în experimentele de laborator, pentru *Hydromermis contorta* am atestat numai penetrația percutanată. Larvele invazionare ale mermitidelor, plutind la suprafaţa apei, efectuează la început deplasări nedirecţionate. Ajungând la distanţa de 1 mm de la larva gazdei, mermitida începe să facă deplasări direcţionale, efectuând mişcări oscilatorii caracteristice cu partea anterioară. În acest moment, la capătul anterior al mermitidei este secretată o picătură cleioasă, cu ajutorul căreia nematodul se încleie de suprafaţa corpului larvei ţânţarului. Faza de încleiere durează 1 min. După aceasta, în decurs de 2-3 min, mermitida caută un loc potrivit pentru penetrare, după care perforează cuticula larvei cu ajutorul odontostilului. În acest moment larva gazdei este provizoriu paralizată, inima ei se opreşte, iar intestinul îşi intensifică contracţiile peristaltice. Paralizia larvei durează circa 2 min, după care mermitida pătrunde în interiorul corpului acesteia.

Ciclul vital al nematodului *H. contorta* constă din 3 faze: preparazitară, parazitară și postparazitară. Invazionară este larva de vârsta a Il-a. Pentru *H. contorta* a fost stabilită penetrarea activă în hemocelul gazdei prin septele intersegmentare ale abdomenului și ulterior prin țesuturi. Deci, penetrarea larvei invazionare în corpul gazdei în cazul dat are loc percutanat.

Reprezentanţii unor specii de mermitide se dezvoltă numai în gazdele larvare, în condiţii normale ale mediului înconjurător, în timp ce altele - probabil, îşi termină dezvoltarea în orice stadiu al gazdei, în dependenţă de vârsta acesteia în momentul penetrării. Totuşi, reprezentanţii unor specii se pot maturiza numai în gazda adultă. Mermitidele încetează a se nutri înainte de ieşire din organismul gazdei şi formează o cuticulă secundară (păstrând cuticula larvară precedentă), ceea ce le conferă toleranţă la condiţiile mediului extern. Mermitidele părăsesc organismul parazitat formând un orificiu în cuticula gazdei prin simplă presiune mecanică asupra sectoarelor intersegmentare. În momentul ieşirii parazitului survine moartea gazdei larvare. Uneori gazda adultă supravieţuieşte ieşirii parazitului, producând în acest caz o pontă redusă de ouă. Mermitidele poslparazitare se adună, formând gheme pe fundul bazinului acvatic. Mermitidele sunt animale unisexuate, ovipare. Masculii sc disting de femele atât prin dimensiunile mai mici, cât și prin prezența spiculei la capătul posterior al corpului.

La *H. contorta* ultima năpârlire de maturizare are loc deja în corpul gazdei. Problema privitoare la năpârlirea mermitidelor necesită cercetări suplimentare prin aplicarea unor metode speciale de studiu (observații fotomicroscopice, măsurarea exuviilor lăsate, studierea procesului de năpârlire cu ajutorul microscopiei electronice). Mermitidele postparazitare nu se nutresc și de aceea fecunditatea lor depinde în întregime de rezervele acumulate anterior pe parcursul perioadei dc parazitare, variind în diapazonul de 2-30000 de ouă. După ieșirea din gazde postparaziții liberi, ce nu se nutresc, pătrund în substratul mediului, unde năpârlesc până la stadiul de adult, copulează şi depun ouăle. Această perioadă poate fi atât de scurtă durată, cât şi de 7-10 zile. La mermitidele care parazitează gazdele univoltine această perioadă poate dura un an.

Ouăle mermitidelor acvatice sunt, de obicei, sferice, transparente şi conţin la suprafaţă cantităţi mici de substanţă gelatinoasă. Ouăle celor mai multe mermitide acvatice au o toleranţă scăzută pentru uscare. Totuși, ouăle mermitidelor, care parazitează simuliidele din biotopurile inundabile, sunt capabile să tolereze perioade îndelungate de aflare în habitate uscate. Iniţierea şi decurgerea maturizării ouălor după depunerea lor depinde de temperatura mediului extern. Incubaţia ouălor este posibilă la temperatură şi umiditate optime. Acolo, unde apa liberă lipseşte, ouăle maturizate nu eclozează până în momentul inundării habitatului. În habitatele, inundate pentru perioade extinse, există o reproducere continuă scăzută a mermitidelor. Dacă habitatele uscate sunt inundate, atunci are loc sincronizarea proceselor de depunere a ouălor de către gazde și mermitide, rezultând frecvent valori ridicate ale extensivității invaziei.

Efectul temperaturii asupra dezvoltării şi parazitării este documentat pentru un șir de specii de mermitide. Conform cercetărilor noastre efectuate asupra speciei *Hydromermis contorta*, cele mai favorabile temperaturi pentru dezvoltarea ouălor și viața larvelor invazionare și a nematodelor postparazitare se găsesc în diapazonul termic de la +10° C până la +25°C. Temperaturile scăzute (-2°C) şi cele ridicate (+30°C) sunt letale pentru toate stadiile de dezvoltare a paraziţilor. Termenele de dezvoltare a mermitidelor, de regulă, sunt sincronizate cu ciclul vital al gazdei. Un factor limitant important pentru mer-

mitidele acvatice poate fi deplasarea apei. Încercările de a infecta larvele de hironomide cu larve de mermitide în apa curgătoare sunt ineficiente.

Uscăciunea nu este un factor limitant esențial pentru mermitidele acvatice. Deşi nematozii şi ouăle acestora nu tolerează uscarea chiar şi pentru câteva minute, există suficientă umiditate pentru ca în habitatele uscate să se menţină populaţiile parazitului până în momentul inundării acestor habitate. Dimpotrivă, umiditatea este un factor major pentru mermitidele terestre. Un nivel ridicat de parazitare de către mermitidele terestre este întotdeauna asociat cu umiditatea persistentă a mediului.

Preparaziţii mermitidelor devin imobili după 8 ore de aflare în mediul acvatic cu un conţinut organic ridicat şi cu concentraţii scăzute ale oxigenului. Acest fapt explică, cel puţin în parte, de ce mermitidele sunt ineficiente în mediile poluate.

Mermitidele, cu mici excepții, parazitează în stadiile imature ale gazdelor lor. Vârsta gazdei imature influenţează susceptibilitatea acestei gazde la invazia de către anumite specii de mermitide. Vârsta gazdei condiţionează reuşita încercării de a limita efectivul populaţiilor gazdelor cu creştere rapidă din habitatele inundabile. Cel mai frecvent infectarea are loc la larvele hironomidelor de vârstele 2-3. Dacă invazia este singulară, atunci mermitidele îşi termină dezvoltarea în mod normal, părăsind gazda în faza postparazitară matură. Dacă mermitidele infectează gazdele de vârste mai tinere, atunci ele îşi continuă dezvoltarea în organismul pupei sau chiar al gazdei la stadiul de imago, pe care îl părăseşte în perioada de depunere a ouălor.

Cercetările confirmă, că răpitorii și paraziții mermitidelor reduc eficiența ultimelor în mediile acvatice. Stadiul preparazitar este atacat de copepode, gamaride și astacide tinere, ditiscide, larvele odonatelor. În experimente de laborator populația mermitidelor este semnificativ redusă de copepode cu densitatea de 20-100/1l. Copepodele pot juca un rol semnificativ în succesul sau insuccesul aplicării mermitidelor în natură pentru combaterea dăunătorilor. Organismele patogene pot limita efectivul populațiilor de mermitide acvatice și terestre. Dezvoltarea fungilor poate afecta potențialul mermitidelor acvatice în combaterea simuliidelor. Impactul organismelor patogene asupra mermitidelor în condiții naturale rămâne încă neelucidat.

Mermitidele insectelor terestre prezintă un diapazon mai larg de gazde, față de cele ale insectelor acvatice. Din cauza dificultăţilor de manipulare cu mermitidele în condiții de laborator, majoritatea informațiilor despre specificitatea mermitidelor derivă din observațiile asupra insectelor infectate în natură. Diapazonul gazdelor mermitidelor acvatice este mai restrâns, limitându-se frecvent la una sau câteva specii apropiate. Susceptibilitatea este, cu unele excepții, înaltă și la genul *Anopheles* [2]. Aceste informaţii demonstrează complexitatea interdependenţelor în sistemele respective „parazit-gazdă" și confirmă importanța cunoașterii acestor interrelații pentru asigurarea eficienței mermitidelor în combaterea biologică a insectelor dăunătoare.

Prin analize biochimice ale materialului cultivat în condiții de laborator, s-a demonstrat că gazda și parazitul tisular prezintă similitudini calitative și cantitative dintre seturile de aminoacizi proteici. Aceste similitudini sunt cu atât mai pronunțate, cu cât este

mai înalt gradul de specificitate al partenerilor sistemului parazitar respectiv. În rezultatul cercetărilor noastre au fost determinați coeficienții care exprimă raportul cantitativ al aminoacizilor bazici (arginina, lizina, histidina) față de cei bicarbonici (acizii asparagic și glutamic) și care s-au dovedit a fi foarte apropiați ca valoare pentru proteinele parazitului *Hydromermis contorta* (0,92) și cele ale gazdei sale *Chironomus plumosus* (0,96). Această similitudine poate fi explicată prin adaptarea parazitului la țesuturile gazdei și prin coevoluția structurilor antigenice ale partenerilor sistemului respectiv ,,parazit-gazdă".

CONCLUZII

1. Pe cale experimentală s-a stabilit că cele mai favorabile temperaturi pentru dezvoltarea ouălor și viața larvelor invazionare și a mermitidelor postparazitare se găsesc în diapazonul termic de la +10°C până la +25°C. Temperaturile scăzute (-2°C) și cele ridicate (+30°C) sunt letale pentru toate stadiile de dezvoltare a paraziților.

2. Reușita cultivării mermitidelor în condiții de laborator depinde în grad major de facilitatea cultivării gazdelor acestora. Cultivarea in vivo rămâne principala modalitate de producere în masă a mermitidelor în calitate de agenți biologici reglatori ai efectivului populațiilor de insecte dăunătoare.

REFERINȚE:

1. RUSU, V., TODERAŞ, I., BUDEANU, M., PÎRŢU, I. Rolul mermitidelor (*Nematoda, Mermithidae*) în calitate de agenți biologici reglatori ai efectivului insectelor heterotope şi hematofage. În: *Integrare prin cercetare și inovare.: Științe exacte și ale naturii*, 7-8 noiembrie 2024, Chișinău. Chișinău, Republica Moldova: Centrul Editorial-Poligrafic al Universității de Stat din Moldova, 2024, SNE, pp. 327-332. ISBN 978-9975-62-808-2. https://doi.org/10.59295/spd2024n.45
2. ABAGLI, A. Z., ALAVO, T. B., PEREZ-PACHECO, R., AND PLATZER, E. G. 2019. Efficacy of the mermithid nematode, *Romanomermis iyengari*, for the biocontrol of Anopheles gambiae, the major malaria vector in sub-Saharan Africa. Parasites & Vectors, 12: 1-8. 2019. https://doi. org/10.1186/s13071-019--3508-6

N.B. *Subprogram 010701 al USM ,,Evaluarea structurii și funcționării lumii animale și ecosistemelor acvatice sub influența factorilor biotici și abiotici în contextul asigurării securității ecologice și bunăstării populației".*