УДК 593.1:576.8

СВЕТО- И ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИНФУЗОРИИ BALANTIDIUM HELENAE BEZZENBERGER, 1904 (LITOSTOMATEA, TRICHOSTOMATIA) ИЗ КИШЕЧНИКА ЛЯГУШЕК RANA TEMPORARIA LINNAEUS, 1758

© О. А. Корнилова,[1] Л. В. Чистякова[2]*

[1] Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена
наб. р. Мойки, 48, С.-Петербург, 191186
[2] Санкт-Петербургский государственный университет
Университетская наб., 7/9, С.-Петербург, 199034
* E-mail: batsnwr@mail.ru
Поступила 30.09.2014

На свето- и электронно-микроскопическом уровне исследовано строение инфузории *Balantidium helenae* Bezzenberger, 1904. Показано, что основными диагностическими признаками данного вида являются помимо основных морфометрических характеристик наличие заостренного выступа на заднем конце клетки, удлиненные реснички на левом краю вестибулума, а также форма и размер кортикальных гребней. В цитоплазме *B. helenae* обнаружено 2 морфологически различных типа электронноплотных телец, предположительно, гидрогеносом, а также бактерии-эндобионты.
Ключевые слова: балантидиум, морфометрия, ультраструктура.

В состав рода *Balantidium* Claparède et Lachmann, 1858 в настоящее время входят более 80 номинальных видов инфузорий — эндобионтов различных позвоночных и беспозвоночных животных (Янковский, 2007, Schuster, Li et al., 2007, 2009; Ramirez-Avila, 2008). Однако исследования последних лет свидетельствуют о том, что в действительности видовое разнообразие этой группы протистов может оказаться существенно меньше. Систематическая принадлежность балантидиумов определяется преимущественно на основании данных морфометрии, при этом набор признаков, который был использован различными авторами при описании того или иного вида, варьирует в значительной степени (см., например, Bezzenberger, 1904; Hegner, 1934; Shete, Krishnamurthy, 1984; Li et al., 2007, 2009). Кроме того, по крайней мере для некоторых видов этих инфузорий характерна высокая степень изменчивости, которая может быть связана в том числе и со стадией жизненного цикла (Суханова, 1960; Schuster, Ramirez-Avila, 2008). В то же время многие описания были сделаны по результатам изучения сравнительно небольшого количества особей, вследствие чего становится вполне вероятным, что в подобных случаях указанные автором морфометрические данные не отражают реальный диапазон изменчивости вида (см., например, Bezzenberger, 1904; Pal, Dasgupta, 1978; Khan, Ip, 1986; Grim, Buonanno, 2009).

Сравнительный анализ представителей рода *Balantidium*, по имеющимся морфометрическим данным показал, что многие из них, по всей вероятности, самостоятельными видами не являются (Корнилова и др., 2014). С другой стороны, имеющиеся немногочисленные данные по секвенированию последовательностей генов 18S рРНК и ITS1-5.8S rRNA-ITS2 свидетельствуют о том, что вся совокупность видов балантидиумов, выделенных из различных теплокровных животных, в действительности представляет собой единственный вид *Balantidium coli sensu* Malmsten, 1857 (Ponce-Gordo et al., 2008, 2011; Pomajbikova et al., 2013). Согласно молекулярно-биологическим данным, представители рода *Balantidium* из разных групп хозяев формируют по крайней мере 3 отдельные ветви на филогенетическом дереве трихостоматид (Li et al., 2011, Pomajbikova et al., 2013). В сложившейся ситуации для проведения ревизии рода *Balantidium* необходимыми являются реизоляция и переописание с использованием современных методов возможно большего количества видов балантидиумов из различных групп хозяев; безусловно, важным представляется выявление морфологических и молекулярных маркеров, которые могут быть использованы для различения видов балантидиид с учетом уровня внутривидовой изменчивости.

Мы полагаем, что первоочередное внимание в исследованиях подобного рода должно быть уделено тем из видов, которые благодаря наличию каких-либо дифференциальных морфологических признаков могут быть безошибочно определены уже при помощи светового микроскопа. Нужно отметить, что подавляющее большинство представителей рода *Balantidium*, в первую очередь из кишечника рыб и амфибий, изучены только на светооптическом уровне. Последовательность 18S РНК (за исключением балантидиумов из теплокровных) секвенирована только для двух организмов — типового вида *Balantidium entozoon* (Ehrenberg, 1838) из лягушек *Pelophylax «esculentus»* (=*Rana esculenta*) (Linnaeus, 1758) (Grim, Buonanno, 2009) и *Balantidium ctenopharyngodoni* Chen, 1955 из белого амура *Ctenopharyngodon idella* (Li et al., 2011). С использованием методов электронной микроскопии исследованы: один вид из морских рыб — *Balantidium jocularum* Grim, 1993 (Grim, 1993), два вида из пресноводных рыб — *Balantidium polyvacuolum* Li, 1963 и *B. ctenopharyngodoni* (Li et al., 2012a, b) и два вида из земноводных — *B. entozoon* и *Balantidium xenopi* Puytorac et Grain, 1965 (Puytorac, Grain, 1965, Guinea et al., 1992, Grim, Buonanno, 2009). В настоящей работе представлены результаты светооптического и электронно-микроскопического исследования инфузории *Balantidium helenae* из кишечника травяной лягушки *Rana temporaria* Linnaeus, 1758.

В первоописании этого вида инфузорий (Bezzenberger, 1904) в качестве основных признаков, отличающих *B. helenae* от других видов балантидиумов, приведены: размеры клетки (средняя длина 110 мкм, максимальная длина 130 мкм, средняя ширина 60 мкм, максимальная ширина 70 мкм), почковидный или подковообразный макронуклеус и очень длинные реснички на левой губе вестибулума, почти перекрывающие перистом. В более поздних описаниях (Bhatia, 1936, Senler, Yildiz, 2000) дополнительно указаны такие внешне заметные признаки, как суженный передний конец тела и небольшой заостренный выступ на заднем конце тела.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Данное исследование проведено на материале содержимого кишечника 25 экз. лягушки травяной *Rana temporaria* — особей разного пола и возраста из Ленинградской обл. (Северо-Западный регион России), умерщвленных парами диэтилового эфира. Лягушки были пойманы весной (апрель—май) 2013 г. Вскрытие кишечника проводили в физиологическом растворе для лягушек (0.6 % NaCl). В 5 особях лягушек были обнаружены активные трофозоиты инфузорий *Balantidium helenae*. Для светооптических наблюдений клетки фиксировали 4%-ным раствором формалина. Светооптические наблюдения и измерения клеток инфузорий проводили при помощи фазово-контрастного микроскопа Leica DM2500 с системой визуализации Nikon DS-Fi1. Для электронно-микроскопического исследования инфузорий отлавливали поштучно из содержимого кишечника лягушек и фиксировали смесью, состоящей из 4%-ного глутаральдегида и 1%-ного OsO_4 на 0.1 М какодилатном буфере (pH 7.4). Фиксацию проводили на тающем льду в темноте в течение 1 ч, с полной заменой фиксатора через 30 мин после начала фиксации. После отмывки в 0.1 М какодилатном буфере (pH 7.4) в течение 15 мин клетки постфиксировали в 1%-ном растворе OsO_4 на том же буфере, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне и заключали инфузорий (поштучно) в смесь аралдита с эпоном. Ультратонкие срезы приготавливали с помощью ультратома Reichert, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и просматривали на просвечивающем электронном микроскопе Tesla BS500.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Световая микроскопия

Инфузории *Balantidium helenae* были обнаружены в 5 лягушках из 25. Численность активных трофозоитов составляла от нескольких десятков до нескольких сотен инфузорий на одну особь лягушки, в основном они были встречены в дистальном отделе толстого кишечника. В двух случаях наблюдалось совместное заражение лягушек инфузориями другого вида рода *Balantidium* — *B. duodeni* Stein, 1867. Основные морфометрические данные для *B. helenae* представлены в табл. 1.

Средняя длина клеток *B. helenae* 128.9 мкм (109.0—166.4 мкм), ширина 91.9 мкм (75.8—115.2 мкм), отношение длины к ширине 1.4. Тело грушевидной или яйцевидной формы (рис. 1, *а*, см. вкл.), округлое в поперечном сечении. Некоторые трофозоиты своей формой напоминают веретено, иногда они изогнуты. Все тело густо покрыто продольными рядами ресничек (кинетами) с межрядным расстоянием около 1—1.2 мкм, общее число

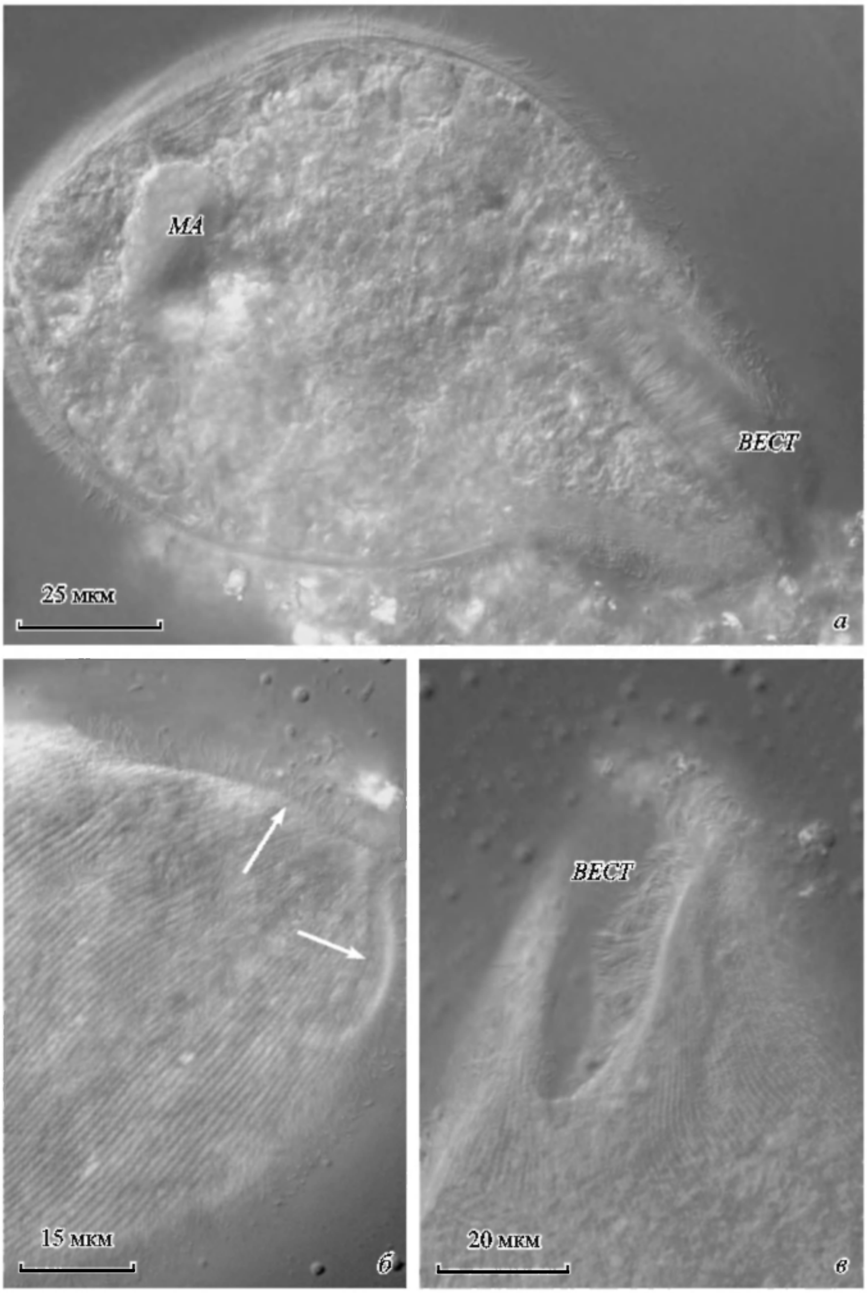

Рис. 1. Строение *Balantidium helenae*: световая микроскопия.

а — общая морфология; *б* — задний конец клетки, обозначен заостренный выступ; *в* — передний конец клетки и вестибулум; *ВЕСТ* — вестибулум; *МА* — макронуклеус.

Fig. 1. Morphology of *Balantidium helenae* (light microscopy).

Таблица 1

Данные морфометрии для вида *B. helenae*

Table 1. Morphometric data of *B. helenae*

	X	max	min	Стандартное отклонение	Ошибка среднего	Объем выборки
Длина клетки, мкм	128.87	166.4	109.0	14.42	3.80	20
Ширина клетки, мкм	91.86	115.2	75.8	10.13	3.18	20
Соотношение длина/ширина	1.41	1.71	1.20	0.14	0.37	20
Длина вестибулума, мкм	54.0	60.2	44.2	4.44	2.11	20
Длина вестибулюма/длина клетки	0.42	0.51	0.32	0.04	0.20	20
Длина Ма, мкм	27.28	39.7	17.4	7.22	2.69	20
Ширина Ма, мкм	18.49	25.6	14.2	3.28	1.81	20

кинет достигает 120—180 на экваторе клетки. Длина соматических ресничек в среднем 5.8 мкм. Широко-щелевидный перистом длиной 44—60 мкм расположен на переднем конце тела, нижний край доходит почти до середины тела (рис. 1, *а*, *в*). Расстояние между левым и правым краями вестибулума достигает 19—20 мкм в самой широкой части. Длина ресничек, расположенных на левой губе вестибулума, значительно (более чем в два раза) превышает длину соматических ресничек и достигает 12.8—13.2 мкм. На полюсе заднего конца тела имеется небольшой заостренный выступ (рис. 1, *б*). Овальный или почковидный макронуклеус расположен в средней части тела или ближе к заднему концу тела (рис. 1, *а*). Размеры макронуклеуса в среднем составляют 18 × 27 мкм. Микронуклеус вплотную прилегает к макронуклеусу. Сократительная вакуоль обычно одна, находится вблизи заднего конца тела, часто рядом с ядерным аппаратом.

Электронная микроскопия

Все тело инфузории покрыто равномерно расположенными рядами соматических ресничек, между которыми на поверхности имеются кортикальные гребни, наиболее развитые в задней части клетки; их толщина составляет 600—800 нм (рис. 2, *в*, *г*, см. вкл.). Предположительно участок поверхности с максимально развитыми кортикальными гребнями на светооптическом уровне соответствует заостренному выступу на заднем конце инфузории. В гребнях помимо микротрубочковых дериватов обнаруживаются одиночные или лежащие стопками уплощенные цистерны, заполненные электронноплотным содержимым (рис. 2, *в*). В зоне вестибулума ряды ресничек сближены, и толщина гребней соответственно уменьшается до 150—250 нм (рис. 2, *а*, *б*). Покровы клетки образованы пелликулой типичного строения, хотя альвеолярный слой выражен слабо, как у подавляющего большинства трихостоматид. Ресничный аппарат монокинетид-

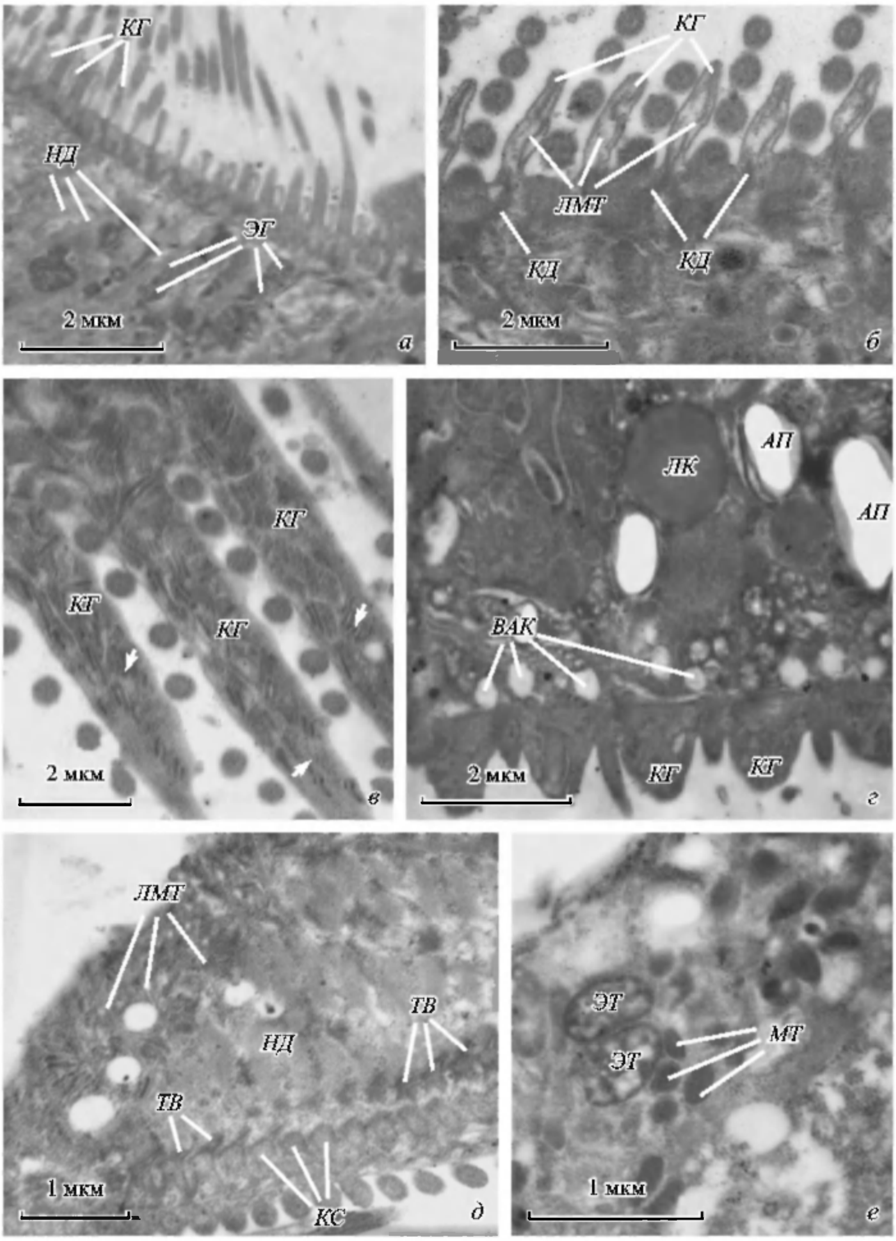

Рис. 2. Строение *Balantidium helenae*: электронная микроскопия.

а — участок вестибулума с развитой системой иемадесм; *б* — строение кортекса в зоне вестибулума; *в* — кортикальные гребни на заднем конце клетки, стрелками обозначены цистерны с электронно-плотным содержимым; *г* — участок клетки в зоне соматической цилиатуры; *д* — участок клетки на границе соматической цилиатуры и вестибулума; *е* — электронно-плотные тельца в цитоплазме *B. helenae*. АП — зерна амилопектина; ВАК — электроннопрозрачные вакуоли; КГ — кортикальные гребни; КД — кинетодесмы; ЛК — липидные капли; ЛМТ — ленты микротрубочек; МТ — электронноплотные тельца, предположительно гидрогеносомы; НД — немадесмы; ТВ — трансверсальные микротрубочки; ЭТ — тельца неоднородной электронной плотности, предположительно бактерии.

Fig. 2. Morphology of *Balantidium helenae* (electron microscopy).

ного типа, набор микротрубочковых дериватов, связанных с кинетосомой, и характер их расположения полностью соответствуют таковым у трихостоматид (рис. 2, *б*, *д*). Система немадесм наиболее развита в зоне вестибулума, где она формирует подобие корзины, армирующей глотку. Кроме того, стенки вестибулума укрепляются за счет равномерно расположенных лент микротрубочек, ориентированных перпендикулярно поверхности (рис. 2, *д*). Ленты, образованные плотно прилежащими друг к другу микротрубочками, выявляются и в вестибулярных кортикальных гребнях (рис. 2, *б*). На границе экто- и эндоплазмы располагается плотный слой микрофиламентов, так называемый lamina corticalis. Непосредственно под этим слоем часто видны небольшие округлые электронно-прозрачные вакуоли (рис. 2, *г*). Цитоплазма инфузорий заполнена многочисленными пищеварительными вакуолями, гранулами амилопектина и липидными каплями (рис. 2, *г*). На срезах в клетке инфузории видны многочисленные овальные или изогнутые тельца неравномерной электронной плотности, окруженные плотной оболочкой, размер которых составляет 500—800 нм в длину и 400—600 нм в ширину (рис. 2, *а*, *е*); эти тельца обнаруживаются в том числе и между лентами немадесм в зоне вестибулума (рис. 2, *а*). Кроме того, в цитоплазме балантидиумов встречаются округлые или овальные электронноплотные тельца, ограниченные мембраной, их диаметр составляет 200—400 нм (рис. 2, *е*).

ОБСУЖДЕНИЕ

Вид *Balantidium helenae*, по свидетельству Беценбергера, был обнаружен у следующих видов лягушек: *Euphlyctis cyanophlyctis* (=*Rana cyanophlyctis*) (Schneider, 1799), *Hoplobatrachus tigerinus* (=*Rana tigrina*) (Daudin, 1803), *Fejervarya limnocharis* (=*Rana limnocharys*) (Gravenhorst, 1829), *Euphlyctis hexadactylus* (=*Rana hexadactyla*) (Lesson, 1834) (Bezzenberger, 1904). Позднее *B. helenae* был выявлен также в кишечнике *Pelophylax ridibundus* (=*Rana ridibunda*) (Pallas, 1771) (Senler et Yildiz, 2000). Таким образом, мы впервые обнаружили этот вид балантидиумов у лягушек *Rana temporaria*. Вопрос о специфичности заражения балантидиумами холоднокровных позвоночных практически не исследован. Тем не менее в литературе имеется информация о том, что спектр земноводных — хозяев таких балантидиумов, как например, *B. entozoon*, *B. duodeni* и *Balantidium elongatum* Stein, 1867, достаточно широк (Суханова, 1960). *B. helenae*, как и подавляющее большинство видов балантидиумов, обитающих в земноводных, встречается преимущественно в задней кишке. О нахождении цист у *B. helenae* сообщений нет. Мы обнаружили в кишечнике лягушек только активные трофозоиты.

Общими морфологическими признаками балантидиид признают мешковидное или слегка вытянутое тело, полностью покрытое ресничками в частых продольных рядах, а также наличие двух полос еще более тесно расположенных ресничек (обособленных от соматических кинет), обрамляющих справа и слева края перистома (Янковский, 2007). Такая топография кинетома хорошо видна на микрофотографиях. Поскольку балантидиумы имеют очень мало других морфологических признаков, пригодных

Таблица 2

Диапазон значений размеров клеток *B. helenae*, по данным разных авторов

Table 1. Comparison of cell size diapasons of *B. helenae* according to available literature

	Длина, мкм	Ширина, мкм	Вид лягушек-хозяев, место сбора
Настоящее исследование	109—166	76—115	*Rana temporaria*, Ленинградская обл.
Bezzenberger, 1904	110—130	60—70	*Euphlyctis cyanophlyctis*, *Hoplobatrachus tigerinus*, *Fejervarya limnocharis*, *Euphlyctis hexadactylus*, Индия
Bhatia, 1936	45—175	30—62	*Euphlyctis cyanophlyctis*, Индия
Senler, Yildiz, 2000	62—112	30—77	*Pelophylax ridibundus*, Турция

для использования в целях таксономии, то видовая принадлежность этих инфузорий определяется преимущественно по данным морфометрии. Основные измерения клеток *B.helenae*, по данным разных авторов, указаны в табл. 2.

По сведениям Сухановой (1960), для балантидиумов из амфибий характерны сезонные различия в морфологии. Для ряда других трихостоматид, например, *Epidinium ecaudatum* (Fiorentini, 1889) из рубца жвачных, *Cycloposthium edentatum* Strelkow, 1929, *Spirodinium equi* Fiorentini, 1890 из кишечника лошади, были отмечены изменения размеров клеток, вероятно, связанные с сезонными особенностями рациона и суточного режима кормления животного — хозяина и выражающиеся в увеличении ширины (толщины) тела инфузории при обилии пищи (Корнилова, 2006). Таким образом, несоответствие морфометрических данных из разных публикаций можно, вероятно, объяснить различным физиологическим состоянием эндобионтов, связанным с течением их жизненного цикла и обитанием в различных хозяевах. При этом характерным отличительным признаком *B. helenae*, согласно первоописанию, являются удлиненные реснички на левой губе вестибулума, а также заостренный выступ на заднем конце клетки, на наличие которого указывают многие авторы (Bezzenberger, 1904; Bhatia, 1936; Senler, Yildiz, 2000). Мы также обнаружили, что число кинет на поверхности клетки *B. helenae* значительно меньше, чем у очень близкого по размерам тела *B. duodeni*.

По своему тонкому строению *B. helenae* весьма сходен с другими видами рода *Balantidium* (Paulin, Krascheninnikow, 1973; Guinea et al., 1992; Grim, 1993; Schuster, Ramirez-Avila, 2008; Grim, Buonanno, 2009; Nilles-Bije, Rivera, 2010; Li et al., 2012a, b). Между рядами ресничек равномерно располагаются кортикальные гребни, внутри которых видны элементы корешкового аппарата ресничек; система альвеол развита слабо. Кортикальные гребни подстилает выраженный слой микрофиламентов, так называемый lamina corticalis, который, по мнению ряда авторов, придает дополнительную прочность покровам балантидиумов, обитающих в просвете кишечника (Grain, 1994; Schuster, Ramirez-Avila, 2008). Нужно отметить, что форма и размер кортикальных гребней *B. helenae* отличаются от таковых у остальных видов балантидиумов (Paulin, Krascheninnikow, 1973;

Guinea et al., 1992; Grim, 1993; Schuster, Ramirez-Avila, 2008, Grim, Buonanno, 2009; Nilles-Bije, Rivera, 2010; Li et al., 2012a, b). Организация зоны вестибулума с мощной «корзиной», образованной немадесмами, а также лентами трансверсальных микротрубочек, армирующими стенки вестибулума и кортикальные гребни, сходна с таковой, описанной для *B. coli*, *B. entozoon* и *B. jocularum* (Wolska, 1963; Guinea et al., 1992; Grim, 1993). Уплощенные цистерны, сходные по своей морфологии с обнаруженными нами в кортикальных гребнях *B. helenae,* были выявлены также у *B. coli, B. entozoon* и *B. polyvacuolum* (Grim, Buonanno, 2009, Nilles-Bije, Rivera, 2010, Li et al., 2012b). Было высказано предположение, что эти структуры представляют собой гидрогеносомы (Grim, Buonanno, 2009). В клетках *B. helenae* мы не обнаружили каких-либо экструсом, хотя в литературе имеются указания на наличие экструсом у некоторых представителей рода *Balantidium*, а именно *B. coli* и *B. polyvacuolum* (Nilles-Bije, Rivera, 2010; Li et al., 2012b). По мнению ряда авторов, наличие мукоцист в эктоплазме *B. coli* связано со способностью этих инфузорий к инцистированию (Pomajbikova et al., 2013).

Электроннопрозрачные вакуоли, располагающиеся под слоем кортикальных филаментов, были обнаружены также у *B. ctenopharyngodoni*, *B. polyvacuolum*, *B. jocularum*; в литературе было высказано предположение, что такие вакуоли могут выполнять функцию депо ионов Ca^{2+} и, таким образом, участвовать в регуляции движения (и изменения формы) инфузории (Grim, 1993; Li et al., 2012a, b).

Наличие липидных капель в цитоплазме характерно для многих видов балантидиумов, причем, согласно наблюдениям Сухановой, максимальное количество капель жира в эндоплазме этих инфузорий отмечается именно весной (Суханова, 1960). Ограниченные мембраной электронноплотные тельца в цитоплазме балантидиумов, вероятно, представляют собой гидрогеносомы. Эти органеллы были обнаружены у представителей различных групп эндобионтных инфузорий, а также свободноживущих инфузорий — обитателей анаэробных биотопов (Fenchel, Finlay, 1991). В литературе имеются указания на наличие гидрогеносом у *B. entozoon*, *B. coli* (у *B. coli* описаны также и митохондрии) (Schuster, Ramirez-Avila, 2008; Grim, Buonanno, 2009; Nilles-Bije, Rivera, 2010). Кроме того, электронноплотные тельца сходного строения можно видеть на электронограммах, приведенных в описаниях тонкого строения *B. jocularum* и *B. caviae* Cunha, 1914 (Paulin, Krascheninnikow, 1973; Grim, 1993).

Таким образом, в клетках *B. helenae* было выявлено 2 морфологически различных типа электронноплотных телец, которые, предположительно, могут оказаться гидрогеносомами. Безусловно, окончательное решение этого вопроса возможно только с использованием биохимических методов. Однако хотелось бы отметить, что ранее в клетках *B. duodeni* мы обнаружили электронноплотные тельца, по своему строению очень сходные с таковыми из эндоплазмы *B. helenae* (Чистякова, неопубликованные данные). При этом микротельца *B. duodeni* часто образовывали комплексы с симбиотическими бактериями, что характерно для гидрогеносом многих анаэробных протистов. Кроме того, такие тельца обнаруживались между пучками немадесм, которые образуют у *B. duodeni* очень мощный цитоскелет, что позволяет предположить энергообразующую роль этих органелл.

Мы предполагаем, что тельца неоднородной электронной плотности с плотной оболочкой, в большом количестве встречающиеся в клетках *B. helenae*, представляют собой бактерии; морфологически они очень сходны с симбиотическими бактериями, обнаруженными в цитоплазме *B. duodeni* (Чистякова, неопубликованные данные). В литературе нет данных о присутствии эндобионтных прокариот в клетках представителей рода *Balantidium*, однако на фотографиях, которые были опубликованы в статьях, посвященных изучению тонкого строения *B. jocularum* и *B. entozoon*, видны структуры, по своему строению весьма напоминающие бактерии (Guinea et al., 1992; Grim, 1993). Наличие симбиотических бактерий характерно для многих анаэробных протистов; в ряде случаев имеются экспериментальные доказательства того, что бактерии-эндобионты принимают участие в метаболических процессах клетки-хозяина (Fenchel, Finlay, 1991) . Это тем более интересно в связи с тем, что у *B. helenae* бактериоподобные включения были обнаружены между пучками немадесм, армирующих стенки вестибулума.

По результатам нашего исследования, вид *B. helenae* обладает выраженным сходством с другими известными представителями рода *Balantidium*, хотя, безусловно, данных по тонкому строению этих инфузорий пока недостаточно для проведения адекватного сравнительно-морфологического анализа. В качестве основных отличительных признаков *B. helenae*, помимо данных морфометрии, можно рассматривать наличие заостренного выступа на заднем конце тела и удлиненных ресничек на левой губе вестибулума, а также размер и форму кортикальных гребней. Мы полагаем, что такой признак, как строение кортикальных гребней, может быть использован как дифференциальный при определении видов рода *Balantidium*.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 12-04-00767-а) с использованием оборудования ресурсных центров СПбГУ «Культивирование микроорганизмов» и «Хромас».

Список литературы

Корнилова О. А. 2006. Эндобионтные инфузории млекопитающих. В сб. науч. тр. каф. зоол. РГПУ им. А. И. Герцена: Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных. СПб., ТЕССА, 6 : 21—78.

Корнилова О. А., Чистякова Л. В., Ягунова Е. Б. 2014. Виды рода *Balantidium* из рыб и амфибий: данные морфометрии. Вестн. СПбГУ. 3 (2) : 5—19.

Суханова К. М. 1960. Цитофизиологическая характеристика жизненных циклов инфузорий рода *Balantidium* из амфибий. В кн.: Вопросы цитологии и протистологии. М.; Л., Наука. 285—312.

Янковский А. В. 2007. Тип Ciliophora Doflein, 1901 — Инфузории. Систематический обзор. В кн.: Протисты: Руководство по зоологии. Ч. 2. СПб.: Наука. 415—993.

Bezzenberger E. 1904. Uber Infusorien aus asiatischen Anuren. Archiv für Protistenkdunde. 3 : 138—174.

Bhatia B. L. 1936. Fauna of British India: Protozoa: Ciliophora. London, Taylor and Francis. 493 p.
Fenchel T., Finlay B. J. 1991. The biology of free-living anaerobic ciliates. European Journ. of Protistology. 26 : 210—215.
Grain J. 1994. Class Vestibuliferea de Puytorac et al., 1974. In : Grasse P., de Puytorac P. (eds.). Traite de Zoologie, Infusoires Ciliés. Paris, Masson. 2/2 : 311—379.
Grim J. N. 1993. Description of somatic kineties and vestibular organization of *Balantidium jocularum* sp.n., possible taxonomic implications for the class Litostomatea and the genus *Balantidium*. Acta Protozoologica. 32 : 37—45.
Grim J. N., Buonanno F. 2009. A re-description of the ciliate genus and type species, *Balantidium entozoon*. European Journ. of Protistology. 45 : 147—182.
Guinea A., Anadon R., Fernandez-Galiano D. 1992. Light and electronmicroscopic study of *Balantidium entozoon* (Ciliophora, Vestibuliferida) : somatic cortex and vestibular cavity. Archiv fur Protistenkdunde. 142 : 41—50.
Hegner R. 1934. Specificity in the genus *Balantidium* based on size and shape of body and macronucleus, with descriptions of six new species. American Journ. of Epidemiology. 19 : 38—67.
Khan M. M., Ip Y. K. 1986. Parasites of toads from Singapore, with a description of *Balantidium singaporensis* sp. n. (Ciliophora: Balantidiidae). Zool. Sci. 3 : 543—546.
Li M., Li D., Wang J., Zhang J., Gu Z., Gong X. 2007. Light and scanning electron microscopic study of *Balantidium ctenopharvngodoni* Chen, 1955 (Class: Litostomatea) from China. Parasitolology Research. 101 : 185—192.
Li M., Wang C., Wang J., Zhang J., Li A., Gong X., Ma H. 2009. Redescription of *Balantidium polyvacuolum* Li 1963 (Class: Litostomatea) inhabiting the intestines of Xenocyprinae fishes in Hubei, China. Parasitolology Research. 106 : 177—182.
Li M., Wang C., Wang J., Yu D., Wang W., Ge X., Xu P. 2011. PCR amplification, sequencing and analysis of 18S rDNA of *Balantidium ctenopharvngodoni* inhabiting grass carp. Acta Hydrobiolica Sinica. 35 : 203—209.
Li M., Wang C., Li W.-D., Zeng L.-B., Wang J.-G., Lu Y.-H., Gon X.-N. 2012a. Ultrastructural study of *Balantidium ctenopharvngodoni* Chen, 1955 (Class: Litostomatea) with an emphasis on its somatic cortex. Acta Hydrobiologica Sinica. 36 : 765—769.
Li W.-D., Wang C., Li M., Huang F., Liu H.-Y. 2012b. Ultrastructural study of *Balantidium polyvacuolum* Li, 1963 (Class: Litostomatea) (that inhabits in xenocyprinae fish). Acta Hydrobiologica Sinica. 6 : 1135—1141.
Lynn D. 2008. The Ciliated Protozoa: Characterization, Classification, and Guide to the Literature. 3rd edit. N.-Y. 605 p.
Nilles-Bije M. L., Rivera W. L. 2010. Ultrastructural and molecular characterization of *Balantidium coli* isolated in the Philippines. Parasitolology Research. 106 : 387—394.
Pal N. L., Dasgupta B. 1978. Observations on 2 new species of *Balantidium* in the indian salamander *Tylototriton verrucosus* (Caudata: Salamandridae). Proceedings of Zoological Society (Calcutta). 31 : 47—52.
Paulin J. J., Kraschenіnnikow S. 1973. An electronmicroscopic study of *Balantidium caviae*. Acta Protozoologica. 7 : 97—107.
Pomajbikova K., Obornik M., Horak A., Petrzelkova K. J., Grim J. N. 2013. Novel insights into the genetic diversity of *Balantidium* and *Balantidium*-like cyst-forming ciliates. PLOS Neglected Tropical Diseases. 7 (3, e2140) : 1—10.
Ponce-Gordo F., Jimenez R. E., Martinez-Diaz R. A. 2008. Tentative identification of the species of *Balantidium* from ostriches (*Struthio camelus*) as *Balantidium coli*-like by analysis of polymorphic DNA. Veterinar Parasitology. 157 : 41—49.
Ponce-Gordo F., Fronseca-Salamanca F., Martinez-Diaz R. A. 2011. Genetic heterogeneity in internal transcribed spacer genes of *Balantidium coli* (Litostomatea, Ciliophora). Protist. 162 : 774—794.
Puytorac P. D., Grain J. 1965. Structure et ultrastructure de *Balantidium xenopi* sp. nov. Cilie trichostome parasite du batracien *Xenopus fraseri* Boul. Protistologica. 1 : 29—36.
Schuster F. L, Ramirez-Avila L. 2008. Current world status of *Balantidium coli*. Clinical Microbiology Review. 21 : 626—638.

Senler N. G., Yildiz I. 2000. The ciliate fauna in the digestive system of *Rana ridibunda* (Amphibia: Anura) I: *Balantidium* (Balantidiidae, Trichostomatida).Turkish Journ. of Zoology. 24 : 33—43.

Shete S. G., Krishnamurthy R. 1984. Observations on the rectal ciliates of the genus *Balantidium*, Claparede and Lachman, 1858 from Indian amphibians *Rana tigrina* and *R. cyanophlyctis.* Archiv fur Protistenkunde. 128 : 179—194.

Wolska M. 1963. Morfology of the buccal apparatus in *Balantidium coli* (Malmsten, 1857). Acta Protozoologica. 1 : 147—155.

THE STUDY OF BALANTIDIUM HELENAE BEZZENBERGER, 1904 (LITOSTOMATEA, TRICHOSTOMATIA) INHABITING THE INTESTINES OF THE FROG RANA TEMPORARIA LINNAEUS, 1758, IN OPTICAL AND ELECTRON MICROSCOPES

O. A. Kornilova, L. V. Chistyakova

Key words: Balantidium, morphometry, ultrastructure.

SUMMARY

The structure of the ciliate *Balantidium helenae* Bezzenberger, 1904 was investigated with the use of optical and electron microscopy. It was demonstrated that, together with the basic dimensional characteristics, main distinguishing features of the studied species include the following characters: the presence of a pointed prominence on the posterior margin of the cell; the presence of elongated cilia on the left margin of the vestibulum; and different shape and size of cortical ridges. Two morphologically different types of electron-dense bodies (supposedly hydrogenosoms) and also endobiotic bacteria were also found in the cytoplasm of *B. helenae.*